
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**БАКЛОФЕН И ПРОИЗВОДНОЕ 4-ФЕНИЛПИРРОЛИДОНА ГИЖ-290
ОСЛАБЛЯЮТ КОМПУЛЬСИВНОПОДОБНОЕ ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ**

© 2023 г. Н. В. Кудряшов^{1, *}, А. В. Волкова¹, Я. С. Козин¹, А. А. Шимширт¹,
П. Л. Наплёкова¹, А. О. Королёв¹, Т. А. Воронина¹

¹НИИ фармакологии имени В.В. Закусова, Москва, Россия

*E-mail: kunvi@mail.ru

Поступила в редакцию 05.09.2023 г.

После доработки 24.10.2023 г.

Принята к публикации 31.10.2023 г.

Обсессивно-компульсивное расстройство (ОКР) — психическое заболевание, характеризующееся obsessions, которые вызывают выраженный дистресс и тревогу, и/или compulsions, направленными на нейтрализацию дистресса и тревоги. Результаты экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют о возможной роли ГАМК_B-рецепторов в патогенезе ОКР, что делает актуальным изучение влияния лигандов этих рецепторов на компульсивноподобное поведение грызунов. Цель работы — изучение эффектов ГИЖ-290 и баклофена на экспериментальных моделях ОКР. Изучены эффекты ГИЖ-290 (0.01, 0.1, 1 мг/кг, в/б) и баклофена (0.1, 1 и 5 мг/кг, в/б) в тестах “Вращающийся стержень” и “Закапывание шариков”, а также на модели нарушения спонтанного чередования у мышей, вызванного введением 8-ОН-DPAT. Показано, что баклофен и ГИЖ-290 во всех исследуемых дозах ослабляли компульсивноподобное поведение мышей — уменьшали количество зарытых шариков в тесте “Закапывание шариков”, однако этот эффект баклофена в дозе 5 мг/кг сопровождался нарушением двигательной координации животных в тесте “Вращающийся стержень”. В то же время ни баклофен, ни ГИЖ-290 не ослабляли нарушение спонтанного чередования у мышей, вызванное введением 8-ОН-DPAT (2 мг/кг, в/б), напротив, баклофен в дозе 1 мг/кг усиливал это нарушение. Таким образом, баклофен и ГИЖ-290 обладают антикомпульсивной активностью в тесте “Закапывание шариков”, но не на модели нарушения спонтанного чередования у мышей, вызванного введением 8-ОН-DPAT.

Ключевые слова: обсессивно-компульсивное расстройство, ГАМК_B-рецептор, баклофен, мышь, 8-ОН-DPAT, ГИЖ-290, закапывание шариков

DOI: 10.31857/S0869813923120051, **EDN:** CGVDYU

ВВЕДЕНИЕ

Обсессивно-компульсивное расстройство (ОКР) — психическое заболевание, характеризующееся obsessions, которые вызывают выраженный дистресс и тревогу, и/или compulsions, направленными на нейтрализацию дистресса и тревоги [1]. ОКР является одним из наиболее распространенных психических расстройств и вносит существенный вклад в глобальное бремя болезней. Традиционно в патогенезе ОКР основную роль отводят изменениям в серотонинергической, дофаминергической и глутаматергической системах кортико-стриато-таламо-кортикальных нейронных цепей головного мозга [1, 2]. Результаты клинических исследований сви-

детельствуют также об изменениях в ГАМКергической системе — уменьшении уровня ГАМК в различных областях коры головного мозга у пациентов с ОКР [3–6]. Тем не менее, классические аллостерические модуляторы ГАМК_A-рецепторов, в частности, производные бензодиазепина, неэффективны в терапии ОКР [2]. В то же время дефицит ГАМКергической нейрональной передачи у пациентов с ОКР может быть ассоциирован с ГАМК_B-рецепторами [5], а полиморфизм гена ГАМК_B-рецептора может обуславливать генетическую предрасположенность к ОКР [7], что позволяет рассматривать его в качестве потенциальной мишени для фармакологической коррекции этого заболевания.

Баклофен (5 и 10 мг/кг), агонист ГАМК_B-рецепторов, ослабляет компульсивно-подобное поведение мышей в тесте “Закапывание шариков”, однако этот эффект сопровождается уменьшением двигательной активности, что, по-видимому, обусловлено центральным миорелаксирующим действием этого вещества [8]. В то же время влияние баклофена в малых дозах на компульсивноподобное поведение грызунов изучено не было. Такой подход позволил бы разделить антикомпульсивный и миорелаксирующий эффекты баклофена, что представляется актуальной задачей.

Соединение ГИЖ-290 (2,6-диметиланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил) уксусной кислоты), синтезированное в ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”, производное 4-фенилпирролидона, обладает противосудорожным эффектом, который, по-видимому, обусловлен взаимодействием с ГАМК_B- [9] и метаботропными глутаматными рецепторами II группы (mGluR II) [10]. Блокаторы mGluR2/3 [11] наряду с модуляторами NMDA-рецепторов [12, 13] способны ослаблять компульсивноподобное поведение грызунов и могут рассматриваться в качестве потенциальной мишени для фармакологической коррекции ОКР. Активность ГИЖ-290 в отношении этих мишеней обуславливает актуальность изучения его эффектов на экспериментальных моделях ОКР.

Целью настоящего исследования являлось изучение эффектов ГИЖ-290 и баклофена на экспериментальных моделях ОКР.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные

Исследования проведены на 222 самцах ICR мышей массой 23–25 г (питомник “Столбовая” ФГБУН НЦБМТ ФМБА России). Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественной суточной смене освещения день/ночь со свободным доступом к воде и корму, за исключением животных, у которых проводилась пищевая депривация продолжительностью 24 ч (4 раза в течение эксперимента). Эти животные получали доступ к корму в течение 1 ч в период пищевой депривации (4 раза в течение эксперимента).

Вещества

В работе были использованы: баклофен (0.1, 1 и 5 мг/кг, Sigma Aldrich), 2,6-диметиланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил) уксусной кислоты (0.01, 0.1 и 1 мг/кг, ГИЖ-290, “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”), флуоксетин (10 мг/кг, Sigma Aldrich), (±)-8-гидрокси-2-(дипропиламино) тетралина гидробромид (8-ОН-DPAT, 2 мг/кг, Sigma Aldrich). 8-ОН-DPAT растворяли в 0.9%-ном растворе натрия хлорида и вводили в/б за 15 мин до теста, все остальные вещества — в 0.9%-ном растворе натрия хлорида с добавлением Tween-80 (Sigma Aldrich) и вводили в/б за 30 мин до поведенческих тестов. В качестве контроля использовали эквивалентный объем (0.1 мл на 10 г массы тела животного) 0.9%-ного раствора натрия хлорида с добавлением Tween-80.

Выбор доз баклофена, флуоксетина и 8-ОН-DPAT был сделан в соответствии с данными об эффектах этих веществ на экспериментальных моделях ОКР [2, 8], а ГИЖ-290 – эмпирически из-за отсутствия данных о влиянии этого соединения на компульсивноподобное поведение и депрессивноподобное состояние грызунов.

Выбор флуоксетина в качестве препарата сравнения обусловлен общепринятыми подходами к доклиническому изучению различных веществ на экспериментальных моделях ОКР [2, 14] и данными о способности агонистов ГАМК_B-рецепторов модулировать серотонинергическую синаптическую передачу [15, 16].

Тест “Закапывание шариков”

В качестве экспериментальной установки использовали индивидуальные поликарбонатные боксы для грызунов (400 × 230 × 150 мм) с крышкой, дно боксов на 5 см заполняли плотно утрамбованным кукурузным подстилом. Предварительно животных помещали в боксы с подстилом на 30 мин с целью ознакомления. После предварительной посадки подстил утрамбовывали и помещали на него 20 стеклянных шариков диаметром 16 мм. Мышей помещали в боксы с шариками на 30 мин, по истечению которых подсчитывали количество зарытых шариков (зарытыми считались шарики, погруженные в подстил на 2/3) [17]. В экспериментальной комнате поддерживали минимальный уровень шума и освещение в 100 лк.

Тест “Вращающийся стержень”

Двигательную координацию мышей оценивали на установке рота-род для мышей (Ugo Basile, Италия), которая представляла собой вращающийся барабан диаметром 3 см, разделенный на 5 дорожек шириной 5.7 см. Начальная скорость вращения барабана составляла 4 оборота/мин, максимальная – 40 оборотов/мин, скорость вращения увеличивалась на 1 оборот каждые 8 с. Регистрировали время удерживания животного на барабане установки [18].

Нарушение спонтанного чередования, вызванное 8-ОН-DPAT

Экспериментальная установка представляла собой Y-лабиринт для мышей, оснащенный дверцами с ручным управлением [19]. В первый день животное на 10 мин помещали в лабиринт с возможностью свободно исследовать все рукава лабиринта (все дверцы были открыты). Во второй день, после 24-часовой пищевой депривации, животное помещали в стартовый рукав лабиринта; в одном целевом рукаве размещали несколько гранул корма, второй был закрыт дверцей. Животное в течение 5 мин имело возможность найти и съесть корм, затем процедуру повторяли с другим целевым рукавом, после чего животных возвращали в домашние клетки и в течение 1 ч предоставляли свободный доступ к корму. На третий день (тренировочные сеансы) животное, после пищевой депривации, помещали в стартовый рукав лабиринта и открывали доступ к двум целевым рукавам с кормом, предоставляя возможность выбрать любой из них. После успешного выбора (пересечения границы всеми четырьмя лапами) животное возвращали в стартовый рукав, который закрывали дверцей на 10 с, восполняли запас гранул в рукавах, после чего животное снова могло выбрать один из двух целевых рукавов. Данную процедуру повторяли 7 раз, фиксируя выбор целевых рукавов. На каждую попытку отводили не более 90 с. По окончании тренировочного сеанса животных возвращали в домашние клетки и в течение 1 ч предоставляли свободный доступ к корму. В общей сложности тренировочные сеансы повторяли в течение 2 дней, в ходе которых фиксировали количество повторных выборов. Животных, которые после третьего тренировочного сеанса совершали более 2 повторных выборов или не покидали

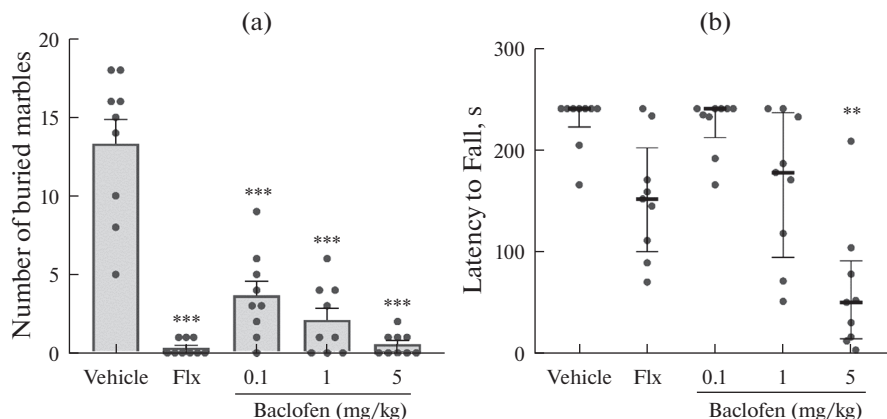


Рис. 1. Эффекты баклофена (0.1, 1, 5 мг/кг) и флуоксетина (10 мг/кг) в тестах “Закапывание шариков” (a) и “Вращающийся стержень” (b). Number of buried marbles – количество зарытых шариков, latency to fall – время удерживания, vehicle – растворитель (контрольная группа), Flx – флуоксетин в дозе 10 мг/кг, baclofen – баклофен, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ по сравнению с растворителем. Данные представлены как $M \pm SEM$ (a) и Me с межквартильным интервалом (b).

стартовый рукав в течение двух попыток, исключали из эксперимента. Перед тестовым сеансом животные подвергались 24-часовой пищевой депривации, затем процедуру, описанную для тренировочного сеанса, повторяли, однако за 15 мин до посадки в лабиринт животным в/б вводили 8-ОН-ДРАТ. В ходе тестовой процедуры также фиксировали количество повторных выборов. После каждого животного лабиринт очищали с помощью 70%-ного этилового спирта и бумажного полотенца.

Статистический анализ

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программного обеспечения GraphPad Prizm 8.0 (GraphPad Software, Inc. США). Проверку результатов на нормальность распределения осуществляли с помощью обобщенного теста Д’Агостино-Пирсона, после чего данные были представлены в виде $M \pm SEM$, либо (Q1, Me, Q3) в случае, если распределение отклонялось от нормального. Отличия между группами определяли по методу однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим апостериорным тестом Тьюки, либо по критерию Краскела–Уоллиса с последующим множественным сравнением в тесте Данна. Результаты считали значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Тест “Закапывание шариков”

В эксперименте с баклофеном однофакторный дисперсионный анализ показал значимое влияние изучаемых веществ на компульсивноподобное поведение мышей ($F_{(4, 40)} = 37.98$; $p < 0.001$), а проведенный апостериорный тест Тьюки выявил различия между средними значениями количества зарытых шариков в группе флуоксетина (0.3 ± 0.2 , $n = 9$, $p < 0.001$), баклофена в дозах 0.1 мг/кг (3.7 ± 0.9 , $n = 9$, $p < 0.001$), 1 мг/кг (2.1 ± 0.7 , $n = 9$, $p < 0.001$) и 5 мг/кг (0.6 ± 0.2 , $n = 9$, $p < 0.001$) по сравнению с контрольной группой (13.3 ± 1.5 , $n = 9$) (рис. 1a).

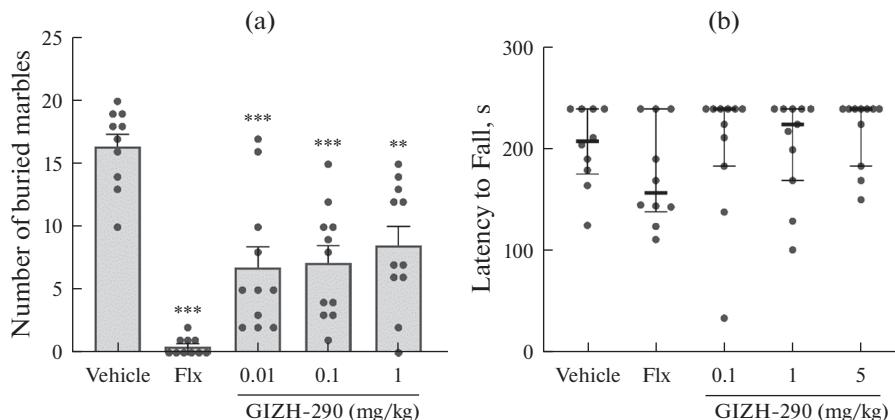


Рис. 2. Эффекты ГИЖ-290 (0.01, 0.1, 1 мг/кг) и флуоксетина (10 мг/кг) в тестах “Закапывание шариков” (а) и “Вращающийся стержень” (b). Number of buried marbles – количество зарытых шариков, latency to fall – время удерживания, vehicle – растворитель (контрольная группа), Flx – флуоксетин в дозе 10 мг/кг, GIZH-290 – ГИЖ-290, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ по сравнению с растворителем. Данные представлены как $M \pm SEM$ (а) и Me с межквартильным интервалом (b).

В эксперименте с ГИЖ-290 однофакторный дисперсионный анализ показал значимое влияние изучаемых веществ на компульсивноподобное поведение мышей ($F_{(4, 48)} = 18.59$; $p < 0.001$), а проведенный апостериорный тест Тьюки выявил различия между средними значениями количества зарытых шариков в группе флуоксетина (0.5 ± 0.2 , $n = 10$, $p < 0.001$), ГИЖ-290 в дозах 0.01 мг/кг (6.8 ± 1.6 , $n = 11$, $p < 0.001$), 0.1 мг/кг (7.2 ± 1.3 , $n = 11$, $p < 0.001$) и 1 мг/кг (8.5 ± 1.5 , $n = 11$, $p < 0.001$) по сравнению с животными контрольной группы (16.4 ± 1.0 , $n = 10$) (рис. 2а).

Таким образом, баклофен и ГИЖ-290 во всех исследуемых дозах ослабляли компульсивноподобное поведение мышей – уменьшали количество зарытых шариков.

Тест “Вращающийся стержень”

В эксперименте с баклофеном критерий Краскела–Уоллиса выявил значимое влияние изучаемых веществ на двигательную координацию мышей ($H(4) = 25.3$; $p < 0.001$), а последующее множественное сравнение в тесте Данна выявило различия между медианами времени удерживания животных на барабане установки в контрольной группе (222.2, 240.0, 240.0, $n = 9$) и в группе баклофена 5 мг/кг (13.0, 49.0, 90.0, $n = 9$, $p < 0.001$), что свидетельствует о нарушении двигательной координации мышей (рис. 1b).

В эксперименте с ГИЖ-290 тест Краскела–Уоллиса не выявил значимого влияния изучаемых веществ на двигательную координацию мышей ($H(4) = 4.77$; $p = 0.3117$) (рис. 2b).

Нарушение спонтанного чередования, вызванное 8-ОН-DPAT

В эксперименте с баклофеном однофакторный дисперсионный анализ выявил значимое влияние изучаемых веществ на спонтанное чередование мышей в Y-лабиринте ($F_{(4, 44)} = 15.4$, $p < 0.001$), а проведенный апостериорный тест Тьюки выявил различия между средними значениями количества повторных выборов целевых рукавов в группах 8-ОН-DPAT (2.6 ± 0.3 , $n = 10$, $p < 0.01$), флуоксетин + 8-ОН-DPAT

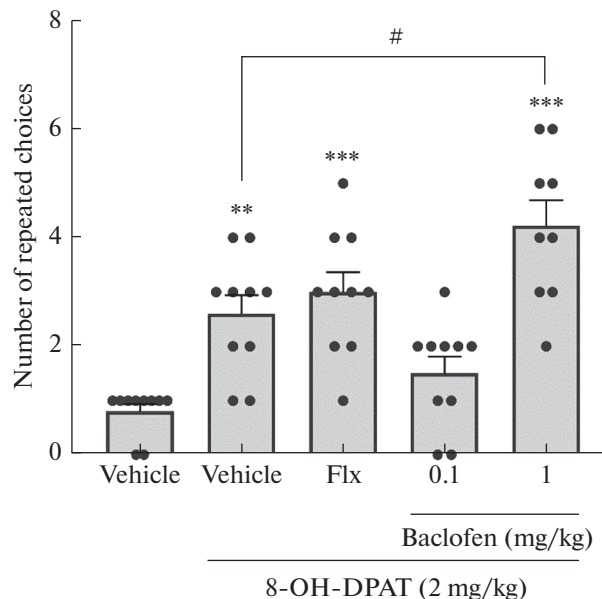


Рис. 3. Влияние 8-ОН-ДПАТ (2 мг/кг), флуоксетина (10 мг/кг) и баклофена (0.1, 1 мг/кг) на спонтанное чередование мышей в Y-лабиринте. Number of repeated choices – количество повторных выборов, vehicle – растворитель (контрольная группа), Flx – флуоксетин в дозе 10 мг/кг, baclofen – баклофен, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ по сравнению с растворителем, # – $p < 0.05$ по сравнению с группой растворитель + 8-ОН-ДПАТ. Данные представлены как $M \pm SEM$.

(3.0 ± 0.4 , $n = 10$, $p < 0.001$) и баклофен 1 мг/кг + 8-ОН-ДПАТ (4.2 ± 0.5 , $n = 9$, $p < 0.001$) по сравнению с животными контрольной группы (0.8 ± 0.1 , $n = 10$), а также между группами 8-ОН-ДПАТ (3.0 ± 0.4 , $n = 10$) и баклофен 1 мг/кг + 8-ОН-ДПАТ (4.2 ± 0.5 , $n = 9$, $p < 0.05$). Эффекты баклофена в дозе 5 мг/кг изучены не были по причине развития миорелаксации у мышей – животные не покидали стартовый рукав лабиринта (рис. 3).

В эксперименте с ГИЖ-290 однофакторный дисперсионный анализ выявил значимое влияние изучаемых веществ на спонтанное чередование мышей в Y-лабиринте ($F_{(5, 69)} = 7.75$, $p < 0.001$), а проведенный апостериорный тест Тьюки выявил различия между средними значениями количества повторных выборов целевых рукавов в группе 8-ОН-ДПАТ (3.1 ± 0.3 , $n = 13$, $p < 0.001$), в группе флуоксетин + 8-ОН-ДПАТ (3.6 ± 0.5 , $n = 12$, $p < 0.001$), ГИЖ-290 0.01 мг/кг + 8-ОН-ДПАТ (2.9 ± 0.6 , $n = 12$, $p < 0.01$), ГИЖ-290 0.1 мг/кг + 8-ОН-ДПАТ (2.7 ± 0.5 , $n = 12$, $p < 0.01$) и ГИЖ-290 1 мг/кг + 8-ОН-ДПАТ (3.8 ± 0.5 , $n = 12$, $p < 0.001$) по сравнению с животными контрольной группы (0.4 ± 0.2 , $n = 14$) (рис. 4).

Таким образом, баклофен не только не ослаблял нарушение спонтанного чередования у мышей, вызванного введением 8-ОН-ДПАТ, но и усиливал его в дозе 1 мг/кг. В то же время ГИЖ-290 не оказывал значимого влияния на нарушение спонтанного чередования.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Баклофен, ГИЖ-290 и флуоксетин ослабляли компульсивноподобное поведение мышей в тесте “Закапывание шариков”, но не влияли на нарушение спонтанного чередования в Y-лабиринте, вызванное введением 8-ОН-ДПАТ.

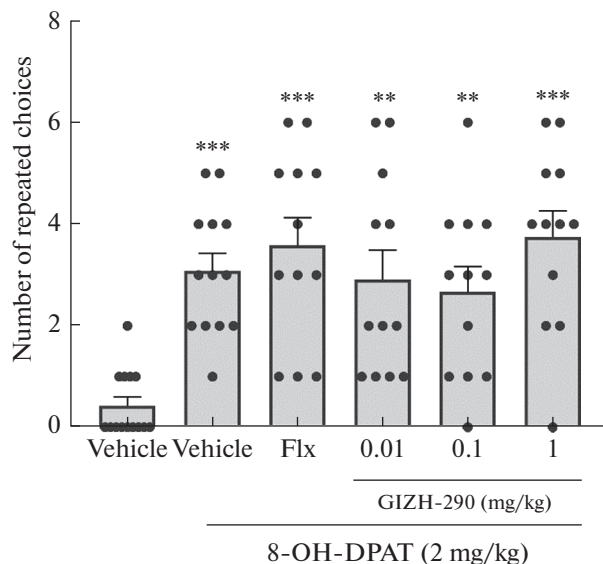


Рис. 4. Влияние 8-ОН-DPAT (2 мг/кг), флуоксетина (10 мг/кг) и ГИЖ-290 (0.01, 0.1, 1 мг/кг) на спонтанное чередование мышей в Y-лабиринте. Number of repeated choices — количество повторных выборов, vehicle — растворитель (контрольная группа), Flx — флуоксетин в дозе 10 мг/кг, GIZH-290 — ГИЖ-290, ** — $p < 0.01$, *** — $p < 0.001$ по сравнению с растворителем. Данные представлены как $M \pm SEM$.

Ослабление компульсивноподобного поведения мышей в тесте “Закапывание шариков”, но не на методике “Нарушение спонтанного чередования, вызванное введением 8-ОН-DPAT” после однократного введения флуоксетина согласуется с данными литературы об особенностях действия селективных ингибиторов обратного захвата серотонина в этих тестах [2, 14].

Установлено, что баклофен в дозе 5 мг/кг также нарушал двигательную координацию мышей в тесте “Вращающийся стержень”, что, по-видимому, обусловлено центральным миорелаксирующим и седативным действием [20] и согласуется с его способностью уменьшать двигательную активность грызунов в зависимости от дозы [21]. Уменьшение количества зарытых шариков, наблюдаемое после применения баклофена в дозе 5 мг/кг в тесте “Закапывание шариков”, по-видимому, следует рассматривать не как ослабление компульсивноподобного поведения, а как результат нарушения двигательной активности мышей, что согласуется с данными литературы [8]. Применение баклофена в дозах 0.1 и 1 мг/кг не сопровождалось нарушением двигательной координации животных, но приводило к уменьшению количества зарытых шариков, что может свидетельствовать об ослаблении компульсивноподобного поведения мышей в этом тесте. В то же время при совместном введении баклофена и 8-ОН-DPAT были обнаружены противоположные эффекты. В частности, была отмечена тенденция к ослаблению компульсивноподобного поведения, вызванного 8-ОН-DPAT, при его совместном применении с баклофеном в дозе 0.1 мг/кг, а в дозе 1 мг/кг баклофен, напротив, усиливал эффект 8-ОН-DPAT — увеличивал количество повторных выборов животными целевых рукавов Y-лабиринта. Подобная зависимость эффектов баклофена от дозы может быть обусловлена воздействием на разные мишени.

Известно, что баклофен способен повышать активность серотонинергических нейронов ядер шва в малых дозах и, как следствие, уровень серотонина в обла-

стях их проекций [15], что некоторые авторы связывают с избирательной стимулирующей пресинаптических ГАМК_B-рецепторов, расположенных на несеротонинергических нейронах [15, 16]. С другой стороны, баклофен является не только агонистом ГАМК_B-рецепторов, но и модулятором хемокиновых рецепторов 4-го типа (CXCR4) [22], которые экспрессируются в том числе в нейронах коры головного мозга, гиппокампа, таламуса, базальных ядер, ствола головного мозга и мозжечка [23]. Установлено, что нокаут гена CXCR4 у мышей приводит к усилению стереотипного поведения [24], которое характерно для многих психических расстройств, включая ОКР [25]. Ослабление компульсивноподобного поведения мышей после применения баклофена в дозе 0.1 мг/кг может быть обусловлено стимуляцией CXCR4, а не ГАМК_B-рецепторов. Это подтверждается, во-первых, отсутствием влияния баклофена в дозе 0.1 мг/кг на двигательную активность мышей, которое обычно связывают с ГАМК_B-рецепторами [20, 21, 26]. Во-вторых, CXCR4 расположены на серотонинергических нейронах ядер шва и могут участвовать в регуляции высвобождения серотонина напрямую, а также опосредованно из-за пресинаптической локализации на глутаматергических и ГАМКергических нейронах [27]. Это может обуславливать антагонизм между баклофеном в малых дозах и 8-ОН-DPAT, который подавляет активность серотонинергических нейронов через стимуляцию 5-HT_{1A}-ауторецепторов [14]. Отсутствие значимого эффекта баклофена в дозе 0.1 мг/кг также согласуется с особенностями модуляции серотонинергической синаптической передачи флуоксетином, селективным ингибитором обратного захвата серотонина, который ослабляет нарушение спонтанного чередования у грызунов в Y-лабиринте, вызванное введением 8-ОН-DPAT, только после хронического введения [2, 14, 28], но не с эффектами антагониста 5-HT_{1A}- и агонистом D₄-рецепторов WAY100635 [28], метилendioксиметамфетамина (МДМА), усиливающего экзоцитоз 5-HT [28], блокатора H₃- и H₄-рецепторов тиоперамида [29], также усиливающих серотонинергическую синаптическую передачу и ослабляющих вызванные 8-ОН-DPAT нарушения спонтанного чередования у мышей после однократного введения.

Следовательно, представляется актуальным дальнейшее изучение влияния баклофена в малых дозах на компульсивноподобное поведение грызунов после хронического введения.

Усиление компульсивноподобного поведения — увеличение количества повторных выборов животными целевых рукавов Y-лабиринта после совместного введения 8-ОН-DPAT и баклофена в дозе 1 мг/кг может быть обусловлено влиянием последнего на ГАМК_B-рецепторы, расположенные на серотонинергических нейронах ядер шва. В данном случае стимуляция 5-HT_{1A}- и ГАМК_B-рецепторов серотонинергических нейронов приводит к прямому ингибированию их активности [16, 30], что, в свою очередь, сопровождается уменьшением внеклеточного уровня серотонина в областях проекций этих нейронов [31, 32]. Косвенно это предположение также подтверждается тенденцией к нарушению двигательной координации мышей в тесте “Вращающийся стержень” после введения баклофена в дозе 1 мг/кг, что может свидетельствовать об активности баклофена в отношении ГАМК_B-рецепторов.

Производное 4-фенилпирролидона ГИЖ-290 во всех исследуемых дозах ослабляло компульсивноподобное поведение мышей в тесте “Закапывание шариков”, но не оказывало влияния на нарушение спонтанного чередования в Y-лабиринте, вызванное введением 8-ОН-DPAT, и двигательную координацию животных в тесте “Вращающийся стержень”. Согласно результатам проведенных ранее исследований, механизм действия ГИЖ-290 может быть связан с модуляцией mGluR II и ГАМК_B-рецепторов [9, 10]. Возможная связь между ГАМК_B-рецепторами и компульсивноподобным поведением обсуждалась выше, однако отличный от бакло-

фена поведенческий паттерн и отсутствие влияния ГИЖ-290 на двигательную координацию мышей могут указывать на отсутствие значимого вклада данной мишени в реализацию антикомпульсивного эффекта ГИЖ-290, либо же на иной характер взаимодействия изучаемого вещества с ГАМК_B-рецепторами. Возможная роль mGluR II может быть косвенно подтверждена способностью антагонистов mGluR2/3 ослаблять компульсивноподобное поведение мышей в тесте “Закапывание шариков” [11], а также согласуется с аналогичным эффектом других модуляторов глутаматергической синаптической передачи — адамантанов [12] и N-ацетилцистеина [13] в этом тесте и их клинической эффективностью в терапии ОКР [33].

Таким образом, баклофен и ГИЖ-290 во всех исследуемых дозах ослабляли компульсивноподобное поведение мышей в тесте “Закапывание шариков”, но не на модели нарушения спонтанного чередования, вызванного введением 8-ОН-ДРАТ. Этот эффект баклофена в дозе 5 мг/кг сопровождался нарушением двигательной координации мышей в тесте “Вращающийся стержень”, что, по-видимому, является следствием центрального миорелаксирующего действия и не отражает влияние баклофена на компульсивноподобное поведение.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям биоэтического комитета НИИ фармакологии им. В.В. Закусова (протокол заседания №8 от 10.06.2022 г.).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках научно-исследовательской программы по теме “Создание методологии лечения тревожно-депрессивных и нейродегенеративных заболеваний на основе фармакологической регуляции системных механизмов нейропротекции”, запланированной в ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В.В. Закусова”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование исследования (Н.В.К. и Т.А.В.), выполнение экспериментальной работы (Н.В.К., А.В.В., Я.С.К., А.А.Ш., А.О.К.), обработка данных (Н.В.К., П.Л.Н.), написание и редактирование рукописи (Н.В.К., А.В.В., Я.С.К., А.А.Ш., П.Л.Н., А.О.К., Т.А.В.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Stein DJ, Costa DLC, Lochner C, Miguel EC, Reddy YCJ, Shavitt RG, van den Heuvel OA, Simpson HB (2019) obsessive-compulsive disorder. *Nat Rev Dis Primers* 5(1): 52.
<https://doi.org/10.1038/s41572-019-0102-3>
2. Alonso P, López-Solà C, Real E, Segalàs C, Menchón JM (2015) Animal models of obsessive-compulsive disorder: utility and limitations. *Neuropsychiatr Dis Treat* 11: 1939–1955.
<https://doi.org/10.2147/NDT.S62785>
3. Biria M, Banca P, Healy MP, Keser E, Sawiak SJ, Rodgers CT, Rua C, de Souza AMFLP, Marzuki AA, Sule A, Ersche KD, Robbins TW (2023) Cortical glutamate and GABA are related to compulsive behaviour in individuals with obsessive compulsive disorder and healthy controls. *Nat Commun* 14(1): 3324.
<https://doi.org/10.1038/s41467-023-38695-z>

4. Li Y, Zhang CC, Kathrin Weidacker, Zhang Y, He N, Jin H, Chen W, Voon V, Edden RAE, Yan F (2019) Investigation of anterior cingulate cortex gamma-aminobutyric acid and glutamate-glutamine levels in obsessive-compulsive disorder using magnetic resonance spectroscopy. *BMC Psychiatry* 19(1): 164.
<https://doi.org/10.1186/s12888-019-2160-1>
5. Richter MA, de Jesus DR, Hoppenbrouwers S, Daigle M, Deluce J, Ravindran LN, Fitzgerald PB, Daskalakis ZJ (2012) Evidence for Cortical Inhibitory and Excitatory Dysfunction in Obsessive Compulsive Disorder. *Neuropsychopharmacology* 37(5): 1144–1151.
<https://doi.org/10.1038/npp.2011.300>
6. Zhang Z, Fan Q, Bai Y, Wang Z, Zhang H, Xiao Z (2016) Brain Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) Concentration of the Prefrontal Lobe in Unmedicated Patients with Obsessive-Compulsive Disorder: A Research of Magnetic Resonance Spectroscopy. *Shanghai Arch Psychiatry* 28(5): 263–270.
<https://doi.org/10.11919/j.issn.1002-0829.216043>
7. Zai G, Arnold P, Burroughs E, Barr CL, Richter MA, Kennedy JL (2005) Evidence for the gamma-amino-butyric acid type B receptor 1 (GABBR1) gene as a susceptibility factor in obsessive-compulsive disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 134B(1): 25–29.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30152>
8. Egashira N, Abe M, Shirakawa A, Niki T, Mishima K, Iwasaki K, Oishi R, Fujiwara M (2013) Effects of mood stabilizers on marble-burying behavior in mice: involvement of GABAergic system. *Psychopharmacology (Berl)* 226(2): 295–305.
<https://doi.org/10.1007/s00213-012-2904-9>
9. Kovalev IG, Vasil'eva EV, Kondrakhin EA, Voronina TA, Kovalev GI (2017) The role of glutamate and GABA receptors in the anticonvulsive effects of levetiracetam and a 4-phenylpirrolidone derivative (GIZh-290) in rats. *Neurochem J* 11: 332–339.
<https://doi.org/10.1134/S1819712417040055>
10. Sukhorukova NA, Vasil'eva EV, Kovalev GI (2023) Phenibut, Semax, and GIZh-290 Modulate Cortical mGluII Receptors in an Attention Deficit Model in Mice. *Neurochem J* 17: 224–229.
<https://doi.org/10.1134/S1819712423020137>
11. Bernalov AY, van Gaalen MM, Sukhotina IA, Wicke K, Mezler M, Schoemaker H, Gross G (2008) Behavioral characterization of the mGlu group II/III receptor antagonist, LY-341495, in animal models of anxiety and depression. *Eur J Pharmacol* 592(1-3): 96–102.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.06.089>
12. Egashira N, Okuno R, Harada S, Matsushita M, Mishima K, Iwasaki K, Nishimura R, Oishi R, Fujiwara M (2008) Effects of glutamate-related drugs on marble-burying behavior in mice: implications for obsessive-compulsive disorder. *Eur J Pharmacol* 586(1-3): 164–170.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.01.035>
13. Egashira N, Shirakawa A, Abe M, Niki T, Mishima K, Iwasaki K, Oishi R, Fujiwara M (2012) N-acetyl-L-cysteine inhibits marble-burying behavior in mice. *J Pharmacol Sci* 119(1): 97–101.
<https://doi.org/10.1254/jphs.11228sc>
14. Arora T, Bhowmik M, Khanam R, Vohora D (2013) Oxcarbazepine and fluoxetine protect against mouse models of obsessive compulsive disorder through modulation of cortical serotonin and creb pathway. *Behav Brain Res* 247: 146–152.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.02.038>
15. Takahashi A, Shimamoto A, Boyson CO, DeBold JF, Miczek KA (2010) GABA(B) receptor modulation of serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus and escalation of aggression in mice. *J Neurosci* 30(35): 11771–11780.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1814-10.2010>
16. Abellán MT, Adell A, Honrubia MA, Mengod G, Artigas F (2000) GABAB-RI receptors in serotonergic neurons: effects of baclofen on 5-HT output in rat brain. *Neuroreport* 11(5): 941–945.
<https://doi.org/10.1097/00001756-200004070-00009>
17. Witkin JM (2008) Animal models of obsessive-compulsive disorder. *Curr Protoc Neurosci* Chapter 9: Unit 9 30.
<https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0930s45>
18. Jakkamsetti V, Scudder W, Kathote G, Ma Q, Angulo G, Dobariya A, Rosenberg RN, Beutler B, Pascual JM (2021) Quantification of early learning and movement sub-structure predictive of motor performance. *Sci Rep* 11(1): 14405.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-93944-9>
19. Kudryashov NV, Volkova AV, Shimshir AA, Naplekova PL, Voronina TA, Seredenin SB (2023) Specifics of Experimental Modeling 8-OH-DPAT-Induced Perseverative Behavior in Mice. *Bull Exp Biol Med* 175(1): 41–44.
<https://doi.org/10.1007/s10517-023-05807-0>
20. Li X, Risbrough VB, Cates-Gatto C, Kaczanowska K, Finn MG, Roberts AJ, Markou A (2013) Comparison of the effects of the GABAB receptor positive modulator BHF177 and the GABAB receptor agonist baclofen on anxiety-like behavior, learning, and memory in mice. *Neurophar-*

- macology 70: 156–167.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.01.018>
21. *McNamara RK, Skelton RW* (1996) Baclofen, a selective GABAB receptor agonist, dose-dependently impairs spatial learning in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 53(2): 303–308.
[https://doi.org/10.1016/0091-3057\(95\)02025-x](https://doi.org/10.1016/0091-3057(95)02025-x)
 22. *Guyon A, Kussrow A, Olmsted IR, Sandoz G, Bornhop DJ, Nahon JL* (2013) Baclofen and other GABAB receptor agents are allosteric modulators of the CXCL12 chemokine receptor CXCR4. *J Neurosci* 33(28): 11643–11654.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6070-11.2013>
 23. *Jiang Z, Zhou W, Guan S, Wang J, Liang Y* (2013) Contribution of SDF-1 α /CXCR4 signaling to brain development and glioma progression. *Neurosignals* 21(3-4): 240–258.
<https://doi.org/10.1159/000339091>
 24. *Cash-Padgett T, Sawa A, Jaaro-Peled H* (2016) Increased stereotypy in conditional *Cxcr4* knockout mice. *Neurosci Res* 105: 75–79.
<https://doi.org/10.1016/j.neures.2015.10.001>
 25. *Ghosh D, Rajan PV, Erenberg G* (2013) A comparative study of primary and secondary stereotypies. *J Child Neurol* 28(12): 1562–1568.
<https://doi.org/10.1177/0883073812464271>
 26. *Colombo G, Melis S, Brunetti G, Serra S, Vacca G, Carai MA, Gessa GL* (2001) GABA(B) receptor inhibition causes locomotor stimulation in mice. *Eur J Pharmacol* 433(1): 101–104.
[https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(01\)01494-7](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(01)01494-7)
 27. *Heinisch S, Kirby LG* (2010) SDF-1 α /CXCL12 enhances GABA and glutamate synaptic activity at serotonin neurons in the rat dorsal raphe nucleus. *Neuropharmacology* 58(2): 501–514.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.08.022>
 28. *Odland AU, Jessen L, Fitzpatrick CM, Andreassen JT* (2019) 8-OH-DPAT Induces Compulsive-like Deficit in Spontaneous Alternation Behavior: Reversal by MDMA but Not Citalopram. *ACS Chem Neurosci* 10(7): 3094–3100.
<https://doi.org/10.1021/acschemneuro.8b00593>
 29. *Verma L, Agrawal D, Jain NS* (2018) Enhanced central histaminergic transmission attenuates compulsive-like behavior in mice. *Neuropharmacology* 138: 106–117.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.05.031>
 30. *Cornelisse LN, Van der Harst JE, Lodder JC, Baarendse PJ, Timmerman AJ, Mansvelder HD, Spruijt BM, Brussaard AB* (2007) Reduced 5-HT1A- and GABAB receptor function in dorsal raphe neurons upon chronic fluoxetine treatment of socially stressed rats. *J Neurophysiol* 98(1): 196–204.
<https://doi.org/10.1152/jn.00109.2007>
 31. *Innis RB, Aghajanian GK* (1987) Pertussis toxin blocks 5-HT1A and GABAB receptor-mediated inhibition of serotonergic neurons. *Eur J Pharmacol* 143: 195–204.
[https://doi.org/10.1016/0014-2999\(87\)90533-4](https://doi.org/10.1016/0014-2999(87)90533-4)
 32. *Tao R, Ma Z, Auerbach SB* (1996) Differential regulation of 5-hydroxytryptamine release by GABAA and GABAB receptors in midbrain raphe nuclei and forebrain of rats. *Br J Pharmacol* 119: 1375–1384.
<https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1996.tb16049.x>
 33. *Naderi S, Faghih H, Aqamolaei A, Mortazavi SH, Mortezaei A, Sahebolzamani E, Rezaei F, Akhondzadeh S* (2019) Amantadine as adjuvant therapy in the treatment of moderate to severe obsessive-compulsive disorder: A double-blind randomized trial with placebo control. *Psychiatr Clin Neurosci* 73(4): 169–174.
<https://doi.org/10.1111/pcn.12803>

Baclofen and 4-Phenylpyrrolidone Derivative GIZH-290 Attenuates Compulsive-Like Behavior in Mice

N. V. Kudryashov^{a,*}, A. V. Volkova^a, Ya. S. Kozin^a, A. A. Shimshirt^a, P. L. Naplekova^a, A. O. Korolev^a, and T. A. Voronina^a

^a*Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russia*

*e-mail: kunvi@mail.ru

Obsessive-compulsive disorder (OCD) is a mental disease characterized by the obsessions which cause marked distress or anxiety and/or compulsions intended to alleviate this distress. The results of experimental and clinical studies suggest a possible role of GABA_B receptors in the pathogenesis of OCD, making it relevant to study the effect of ligands of these receptors on the behavior of rodents. *Objectives:* Studying the effects of

GIZH-290 and baclofen in animal models of OCD. *Methods.* The effects of GIZH-290 (0.01, 0.1, 1 mg/kg, i.p.) and baclofen (0.1, 1, and 5 mg/kg, i.p.) were studied in the marble burying test and the rotarod test, as well as in the 8-OH-DPAT-induced decrease in spontaneous alternation in mice. *Results.* Baclofen and GIZH-290 attenuated compulsive-like behavior in mice by reducing the number of buried marbles in the marble burying test at all tested doses. However, the effect of baclofen at a dose of 5 mg/kg was accompanied by a disruption of the animals' motor coordination in the rotarod test. At the same time, neither baclofen nor GIZH-290 attenuated 8-OH-DPAT-induced (2 mg/kg, i.p.) decrease in spontaneous alternation behavior in mice. On the contrary, baclofen at a dose of 1 mg/kg exacerbated this disruption. *Conclusion.* Baclofen and GIZH-290 have anticomulsive activity in the marble burying test, but not in the 8-OH-DPAT-induced decrease in spontaneous alternation behavior in mice.

Keywords: obsessive-compulsive disorder, GABA_B receptor, baclofen, mouse, 8-OH-DPAT, GIZH-290, marble burying test