



ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ МАФЕДИНА, АГОНИСТА АЛЬФА-2 АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ НА МОДЕЛИ DANIO RERIO

Сысоев Ю. И.¹; Мешалкина Д. А.²; Калуев А. В.²; Оковитый С. В.¹; Мусиенко П. Е.²

¹Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия,
²Институт трансляционной биомедицины, Санкт-Петербургский государственный университет

РЕЗЮМЕ

Фармакологические агенты, оказывающие действие на альфа-2 адренорецепторы, используются не только в кардиологической, но и в неврологической практике. Имеются обнадеживающие результаты экспериментальных исследований, показывающих, что данные лекарственные средства могут иметь место в восстановительной неврологии и психиатрии.

Целью данной работы явилось скрининговое исследование мафедина (6-оксо-1-фенил-2-(фениламино)-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия) (рис. 2), агониста альфа-2 адренорецепторов, на модели Zebrafish в тесте двухуровневого танка.

Мафедин в дозе 60 мг/л оказывал умеренное психостимулирующее действие на экспериментальных рыб, при этом наблюдались элементы анксиогенных и анксиолитических эффектов.

ВВЕДЕНИЕ

Агонисты альфа-2 адренорецепторов традиционно находят свое применение в лечении сердечно-сосудистых и неврологических заболеваний. Общеизвестными являются антигипертензивный, анальгетический, седативный и противотревожные эффекты клонидина и клонидиноподобных лекарственных средств [1].

Большой научный интерес представляет изучение возможности применения агонистов альфа-2 адренорецепторов для терапии психических и тревожных расстройств, а также для лечения последствий травматических или сосудистых повреждений ЦНС, часто являющихся причиной вышеуказанных нарушений.

Многие исследования показали, что в условиях эксперимента агонисты альфа-2 адренорецепторов способны снижать выраженность неврологического дефицита, улучшая гистоморфологическую картину головного мозга у животных после инсульта при введении до или во время ишемии [2; 3; 4].

Для более точного понимания механизмов действия данной фармакологической группы необходимо детальное изучение физиологических функций различных подтипов альфа-2 адренорецепторов (2A/D, 2B и 2C).

Данная задача может быть выполнена с использованием животной модели *Danio rerio*, которая является высокочувствительной системой по отношению к фармакологическому воздействию. Кроме того, данный вид имеет многие анатомические и физиологические сходства ЦНС не только с грызунами, но и с человеком [5].



Рис. 1. *Danio rerio* дикого типа

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было выполнено на взрослых особях *Danio rerio* дикого типа (рис. 1). Животные были рандомизированы на 4 экспериментальных группы по 15 рыб в каждой: контроль, мафедин 15 мг/л, 30 мг/л и 60 мг/л. Дозы были выбраны на основании результатов предварительных экспериментов.

Поведенческое тестирование осуществляли в двухуровневых бассейнах (танках), представляющих собой контейнер размером 20x20x5 см, разделенный чертой на верхнюю и нижнюю половины. Непосредственно перед началом теста рыбы содержались в течение 20 минут в специальных контейнерах объемом 0,5 л, содержащих либо воду, либо раствор тестируемого средства в необходимой концентрации. С помощью видеокамеры в течение 5 минут записывали движение рыб в двухуровневом танке. Анализ полученных файлов осуществляли с помощью программы Ethovision XT.

Для каждого животного оценивали длину пройденной дистанции, среднюю и максимальную скорость, угловую скорость и угловое отклонение. Также подсчитывали частоту замираний, время нахождения в верхней и нижней части танка, частоту переходов между ними и время первого перехода (всплытия).

Достоверность различий оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. Уровень доверительной вероятности был задан 95 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Мафедин в дозе 60 мг/л достоверно по сравнению с контролем изменял некоторые параметры поведения рыб в двухуровневом танке, а именно:

- увеличивалась пройденная в течение 5 минут дистанция, в 1,3 раза по сравнению с контрольными животными ($P=0.045$) (рис. 3);
- уменьшалось угловое отклонение ($P=0.029$) (рис. 4);
- увеличивалось время нахождения в нижней части танка ($P=0.037$) (рис. 5);
- увеличивалась частота замираний ($P=0.037$) (рис. 6).

Также, у животных данной группы наблюдалось некоторое увеличение средней скорости, уменьшение времени первого всплытия и увеличение частоты переходов, кроме того, увеличивались ускорение и средняя угловая скорость, однако относительно данных показателей статистически значимых отличий от контроля получено не было. Результаты других экспериментальных групп не давали в большинстве тестов достоверных отличий по сравнению с контролем, однако наблюдались некоторые сходства с действием мафедина в дозе 60 мг/л.

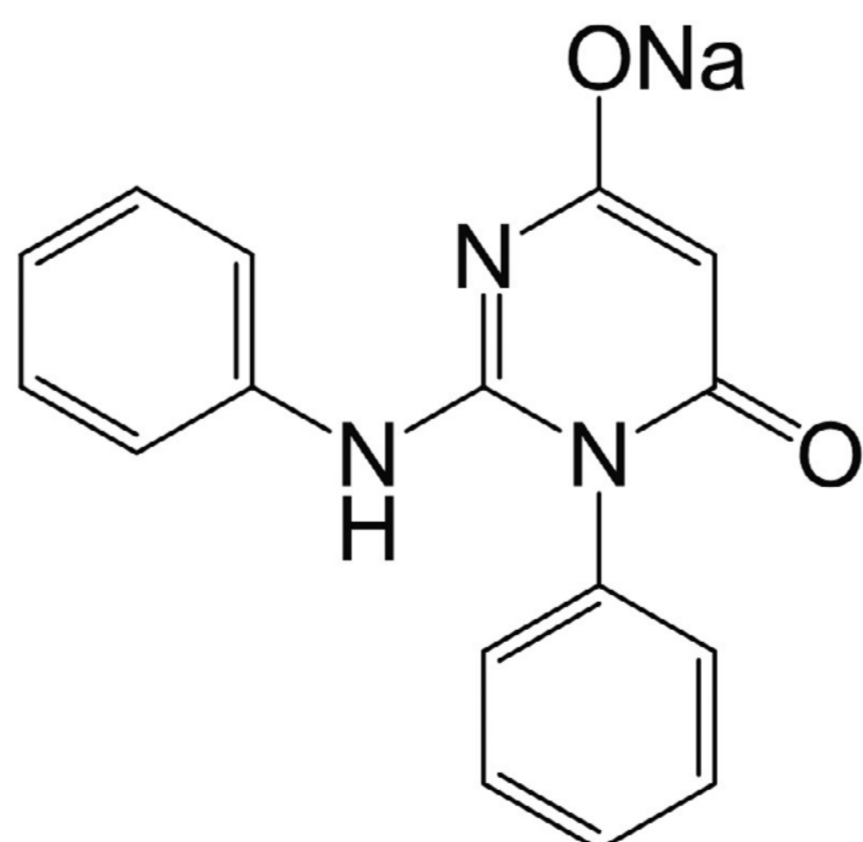
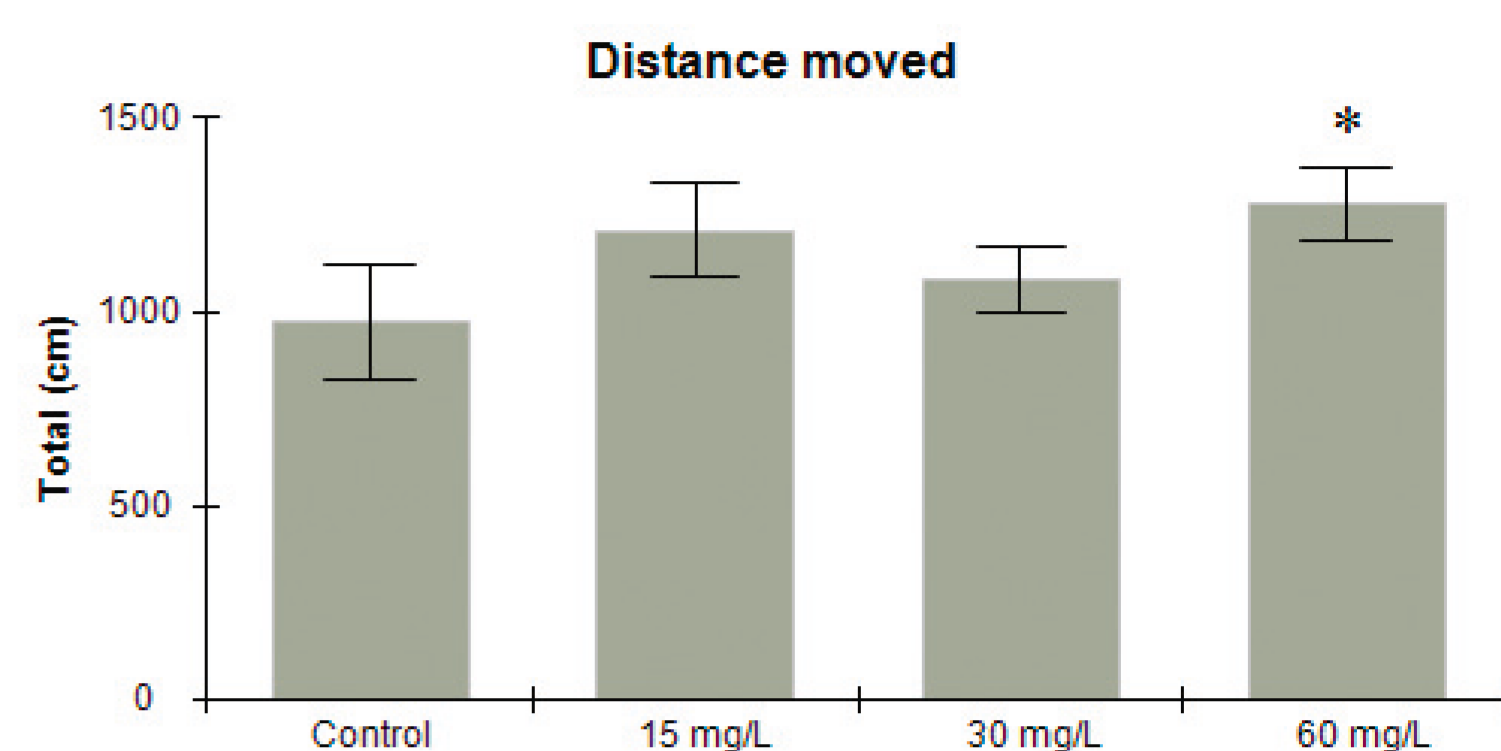


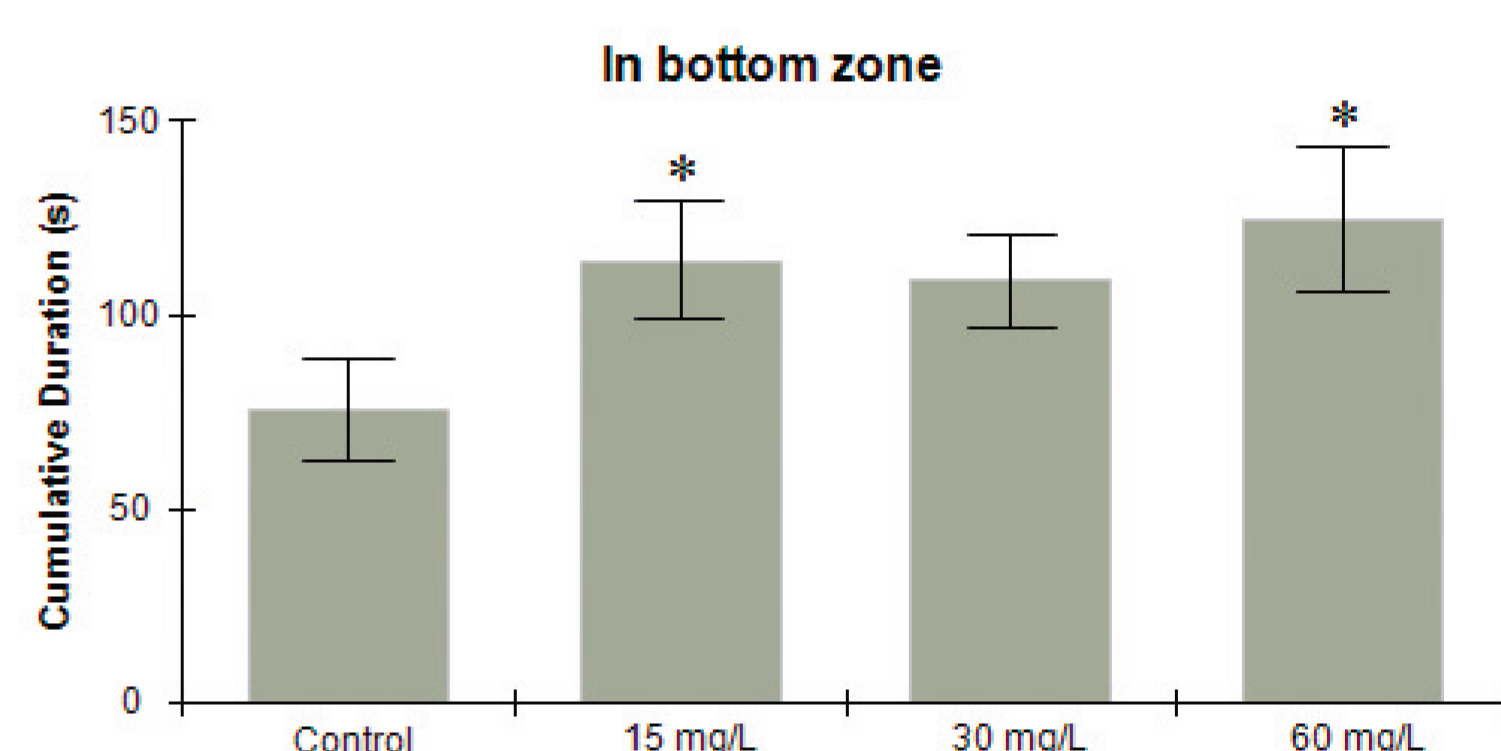
Рис. 2. Структурная формула мафедина



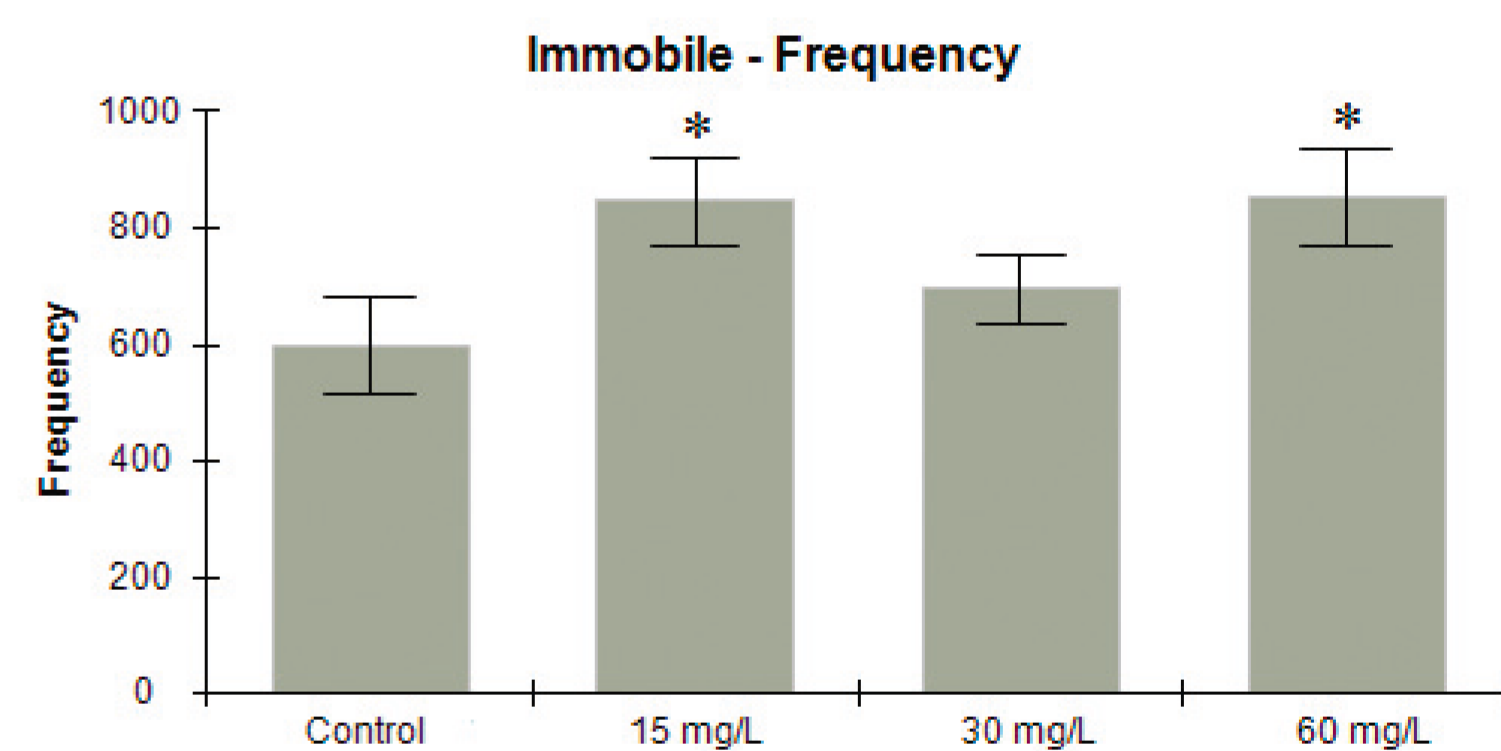
* — достоверные отличия от группы контроля ($p<0.05$)
Рис. 3. Пройденная дистанция, см



* — достоверные отличия от группы контроля ($p<0.05$)
Рис. 4. Среднее угловое отклонение, град.



* — достоверные отличия от группы контроля ($p<0.05$)
Рис. 5. Время нахождения в нижней части танка, сек.



* — достоверные отличия от группы контроля ($p<0.05$)
Рис. 6. Частота замираний

ВЫВОДЫ

1. Поскольку мафедин увеличивал пройденную дистанцию и давал некоторое повышение скорости плавания *Zebra danio*, можно говорить о психостимулирующем действии изучаемого соединения.
2. Увеличение времени нахождения в нижней части танка, а также частые по сравнению с контрольными животными замирания свидетельствуют об анксиогенном действии мафедина.
3. Парадоксально наблюдалась тенденция уменьшения времени первого всплытия и увеличения частоты переходов из нижней части танка в верхнюю, т. е. эффекты, характерные для анксиолитических средств. Данные противоречивые эффекты могут свидетельствовать о дозозависимости фармакологических эффектов мафедина, обусловленных различием в избирательности действия по отношению к различным подтипам альфа-2 адренорецепторов.

REFERENCES

1. Kamibayashi, T., Maze, M., 2000. Clinical uses of α_2 -adrenergic agonists. *Anesthesiology* 93, 1345–1349.
2. Yanli L., Xizhou Z., Yan W. et al. Clonidine preconditioning alleviated focal cerebral ischemic insult in rats via up-regulating p-NMDAR1 and down-regulating NMDAR2A/p-NMDAR2B. *Eur J Pharmacol.* 2016 Dec 15; 793:89-94.
3. Zhang Y. Clonidine preconditioning decreases infarct size and improves neurological outcome from transient forebrain ischaemia in the rat. *Neuroscience.* 2004; 125(3):625-31.
4. Jellish W. S., Murdoch J., Kindel G. et al. The effect of clonidine on cell survival, glutamate and aspartate release in normo- and hyperglycemic rats after near complete forebrain ischemia. *Exp Brain Res.* 2005 Dec; 167(4):526-34.
5. Stewart A. M., Braubach O., Spitsbergen J. et al. Zebrafish models for translational neuroscience research: from tank to bedside. *Trends Neurosci* 2014 May; 37(5):264-78.