

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 615.015.1:547.466.3:612.82.001.6

ИНГИБИРОВАНИЕ ГАМК И ФЕНИБУТОМ  
K<sup>+</sup>-СТИМУЛИРУЕМОГО ВЫСВОБОЖДЕНИЯ <sup>3</sup>H-ДОФАМИНА  
ИЗ СИНАПТОСОМ ПРИЛЕЖАЩЕГО ЯДРА МОЗГА КРЫС

КОВАЛЕВ Г. И., ХЕТЕН Л.

Фенибут ( $\beta$ -фенил-ГАМК)—липофильное производное  $\gamma$ -аминомасляной кислоты—применяется как транквилизирующее средство со специфическим спектром фармакологического действия [1]. Следует признать, однако, что нейрохимические механизмы эффекта препарата остаются до сих пор недостаточно изученными. Введение фенильного радикала в структуру молекулы ГАМК—тормозного медиатора в ЦНС млекопитающих—обусловило появление свойств, отличающихся от таковых у ГАМК. Так, фенибут не связывается с бичукуллинчувствительными рецепторами ГАМК [2], не взаимодействует с переносчиком системы захвата ГАМК синапсосомами [3]: в меньшей степени, чем ГАМК, ускоряет высвобождение <sup>3</sup>H-ГАМК синапсосомами коры мозга крыс, проявляя чувствительность к действию как бичукуллина, так и пикротоксина [4].

Вместе с тем, согласно поведенческим и биохимическим критериям, фенибут способен также вызывать изменения нейрохимических показателей и в дофаминергической системе, в частности в лимбических структурах мозга крыс [5].

Целью настоящей работы явилось изучение роли процесса высвобождения <sup>3</sup>H-дофамина в механизме действия фенибута и ГАМК в синапсосомах прилежащих ядер мозга крыс в условиях *in vitro*.\*

Крысы-самцы линии Вистар (140±10 г) декапитировали после кратковременного (8 с) погружения в жидкий азот. Мозг быстро извлекали, на холоду выделяли прилежащие ядра (n. accumbens) (25±30 мг), которые далее измельчали в гомогенизаторе стекло-тефлон в 0,7 мл 0,32 М сахарозы, содержащей (в мМ): 2,0 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,7 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 1,0 MgCl<sub>2</sub>; 3,0 ЭДТА, pH 7,3.

Гомогенат центрифугировали (1000 г, 10 мин, 4°) для осаждения ядер и обломков клеток. Время от декапитации до инкубации синапто-

\* Работа выполнена в Институте фармакологии и токсикологии клиники Шаритэ университета им. Гумбольдта в Берлине, ГДР. Авторы приносят благодарность Х. Энгель за техническую помощь в проведении экспериментов.

сом не превышало 15 мин. Процедуру по захвату меченого дофамина проводили по Ralfgeyman и соавт. [6]. Пробы суспензии неочищенных синапсом разводили в отношении 1:5 модифицированным буфером [7], содержащим (в мМ): 130 NaCl; 1,7 KCl; 1,3  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 10,4  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; 1,3  $\text{MgSO}_4$ ; 1,3  $\text{CaCl}_2$ ; 11,0 глюкозы; 17,3 сахарозы; 1,1 аскорбиновой кислоты; 0,2 динатриевой соли ЭДТА; 0,125 паргиллина [8].

После насыщения буфера карбогеном величина pH была доведена до 7,3. Через 5 мин пренкубации синапсом при 37° в пробы вносили  $^3\text{H}$ -дофамин («Amersham», 53,2  $\text{K}_\mu/\text{ммоль}$ ) до критической концентрации  $4 \cdot 10^{-7}$  М. Синапсосы инкубировали 10 мин. Захват останавливали быстрой фильтрацией суспензии через стекляннно-волоконистые фильтры («Whatman» GFB), и пробы помещали в суперфузионные камеры (внутренний объем 0,4 мл), модифицированные по Schmieder и соавт. [9]. Суперфузию проводили со скоростью 0,5 мл/мин. Фракции собирали ежеминутно. Схема суперфузии: 5 мин—буфером McIlwain, 4 мин—буфером McIlwain с мкМ фенибута, ГАМК («Reanal») или пикротоксина («Fluka»), либо в сочетании; 5 мин—буфером, содержащим 30 мкМ KCl с (без) упомянутыми веществами; 3 мин—буфером McIlwain. После окончания суперфузии фильтр и пробы растворяли в 8 мл сцинтиллятора Брэя для изменения радиоактивности. Эффект вещества на вызванную секрецию оценивали в процентах относительно действия 30 мМ KCl за 5-минутный период, принятого за 100%. Радиоактивность измеряли при помощи счетчика LKB-1210 (Ultrabeta). Статистический анализ проводили по непараметрическому критерию Гилкоксона, Манна и Уитни.

Установлено, что фенибут, ГАМК и пикротоксин не изменяли процесса базального высвобождения  $^3\text{H}$ -дофамина из предварительно нагруженных синапсом прилежащих ядер мозга крыс. ГАМК в концентрации 50 мкМ уменьшала (таблица) интенсивность  $\text{K}^+$ -стимулируемого высвобождения  $^3\text{H}$ -дофамина до 75%. Пикротоксин—блокатор хлорного ионофора в постсинаптическом рецепторном комплексе ГАМК-ергических синапсов [10]—не влиял на выброс  $^3\text{H}$ -дофамина, вызванный каллевой деполяризацией, однако, будучи введенным совместно с 50 мкМ ГАМК, нейтрализовал действие последней. По-видимому, это может свидетельствовать о наличии в дофаминергических нервных окончаниях прилежащих ядер мозга пресинаптических ГАМК-рецепторов, чувствительных к действию пикротоксина. Эти факты дополняют сведения о нейронной организации прилежащих ядер [11, 12]. Фенибут в данных условиях эксперимента проявил аналогичную ГАМК активность относительно вызванного высвобождения  $^3\text{H}$ -дофамина: ингибировал процесс на 25% и показал зависимость этого торможения от присутствия пикротоксина (таблица).

Эти данные находятся в некотором противоречии со сведениями, полученными в экспериментах с ГАМК и баклофеном (пара-хлорфенил-ГАМК). Так, ГАМК стимулировала спонтанный [13] и вызванный деполяризацией [13, 14] выход  $^3\text{H}$ -дофамина из срезов стриатума,

проявляя чувствительность к действию пикротоксина. Причиной данных расхождений можно считать зависимость от толщины срезов [14], двоякое действие ГАМК на внутриклеточные места хранения дофамина и биккукуллинчувствительные [15] рецепторы ГАМК [16]. Надо иметь в виду, что большинство цитруемых данных получено на срезах, в то время как синапсосомы представляют собой модель *in vitro*

Таблица  
Влияние фенибута и ГАМК на вызванную секрецию 3H-дофамина синапсосомами прилежащих ядер мозга крыс ( $M \pm m$ )

Вещества (мкМ)	n	Изменения, %	Критерий достоверности
I Контроль*	9	100.0 $\pm$ 8.8	
II ГАМК (50)	4	75.3 $\pm$ 14.5	$p < 0.02$ (T-тест)
III Пикротоксин (50)	3	105.4 $\pm$ 9.1	$p > 0.05$
IV ГАМК (50) + пикротоксин (50)	3	107.6 $\pm$ 4.6	$p > 0.05$
V Фенибут (50)	5	75.5 $\pm$ 21.3	$p < 0.05$ (U-тест)
VI Фенибут (50) + пикротоксин (50)	3	104.1 $\pm$ 2.4	$p > 0.05$

\* за 100% принят прирост сверхбазального уровня радиоактивности, высвобожденной при суперфузии буфером с 30 мМ KCl без исследуемых веществ, n—число опытов

нервных окончаний. Кроме того, несмотря на схожесть нейронной организации стриатума и прилежащих ядер [12], чувствительность рецепторов в этих структурах может быть различной [17]. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что ГАМК и фенибут оказывают регулирующее влияние на дофаминсодержащие нервные окончания в прилежащих ядрах, действуя на пикротоксинчувствительные участки. Возможно, что места связывания двух исследованных соединений являются одними и теми же, как это было показано для баклофена [18] и фенибута [19] на основе экспериментов, а для L-баклофена и на основании теоретических расчетов [20].

## GABA AND PHENYBUT INHIBIT POTASSIUM-STIMULATED RELEASE OF <sup>3</sup>H-DOPAMINE FROM RAT BRAIN N. ACCUMBENS SYNAPTOSOMES

KOVALEV G. I., HETEY L.

Institute of Pharmacology, USSR Academy of Medical Sciences,  
Moscow, USSR

Institute of Pharmacology and Toxicology, Humboldt University, Berlin, DDR

Both GABA and phenybut ( $\beta$ -phenyl-GABA), 50  $\mu$ M each, decreased potassium-stimulated release of <sup>3</sup>H-dopamine during superfusion of rat brain n. accumbens synaptosomes up to 75.3 $\pm$ 14.5% and 75.5 $\pm$ 21.3%, respectively. Picrotoxin (50 mM) eliminated these effects, but didn't affect the spontaneous release. Existence of the picrotoxin-dependent receptors regulating the presynaptic dopamine release from dopamine-containing n. accumbens nerve terminals is suggested.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Хаунина Р. А., Лапин Н. П. Хим.-фарм. ж., 12, 125—127, 1976.
2. Galli A., Ziletti L., Scotton M., Adembri G., Giotti A. J. Neurochem., 32, 1123—1125, 1979.
3. Морозов Н. С., Ковалев Г. И., Майсов Н. И., Ковалев Г. В., Раевский К. С. Хим.-фарм. ж., 1, 13—15, 1977.
4. Ковалев Г. И., Прихожан А. В., Раевский К. С. Бюл. экпер. биол. и мед., 94, 11, 59—61, 1982.
5. Алликметс Л. Х., Ряго Л. К., Нурк А. М. Бюл. экпер. биол. и мед., 93, 5, 64—65, 1982.
6. Palfreyman M. G., Palfreyman E. S., Clark S. G. Eur. J. Pharmacol., 28, 379—383, 1974.
7. McIlwain H. Biochem. J., 49, 382—393, 1991.
8. Hetey L., Quiring K. Acta biol. med. germ., 36, 889—895, 1980.
9. Schmieder S., Rudolf E., Fischer H.-D. Acta biol. med. germ., 37, 1707—1711, 1978.
10. Olsen R. Mol. and Cell Biochem., 39, 2, 261—279, 1981.
11. Walaas L., Fonnum F.—In: GABA-neurotransmitters, eds. P. Krogsgaard-Larsen, J. Scheef-Kruger, H. Kofod, Munksgaard—Copenhagen, Academic Press, p. 60—73, 1979.
12. Jones D. L., Mogenson G. L., Wu M. Neuropharmacology. 20, 29—37, 1981.
13. Giorgiueff M. F., Kemel M. L., Glowinski J., Besson M. J. Brain Res., 139, 115—130, 1978.
14. Starr M. Eur. J. Pharmacol., 50, 215—226, 1979.
15. Bowery N. G., Hill D. R., Hudson A. L., Doble A., Middlemiss D. N., Shaw J., Turnbull M. Nature, 283, 92—94, 1980.
16. Reimann W. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol., 316, 67, 1981.
17. Hitri A., Weiner W. D., Klawans H. L.—In: Catecholamines: Basic and Clin. Front. Proc. 4th Int. Catecholamine Simp., Pacific Grove, Calif., v. 1, 553—555, 1978.
18. Bowery N. G., Hill D. R., Hudson A. L. Brit. J. Pharmacol., 74, 222E—223P, 1981.
19. Ряго Л. К., Нурк А. М., Корнеев А. Я., Алликметс Л. Х. Бюл. экпер. биол. и мед., 94, 11, 58—59, 1982.
20. Azanza M. Gen. Pharmacol., 12, 123—128, 1981.

Институт фармакологии АМН СССР,  
Москва

Поступила 20. XII 1982

Институт фармакологии и токсикологии  
университета им. Гумбольдта, Берлин, ГДР