
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
РАБОТЫ

УДК 615.017

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ НООПЕПТА НА СОДЕРЖАНИЕ
НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ АМИНОКИСЛОТ
В ГИППОКАМПЕ У АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС
С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА *IN VIVO* МИКРОДИАЛИЗА**

© 2024 г. **В. С. Кудрин¹, В. Г. Коньков¹, Е. В. Шубенина¹, К. А. Касабов^{1, 2}, Д. В. Садовник²,
А. Х. Хайретдинова², А. Е. Умрюхин², Л. Г. Колик^{1, *}**

¹ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Россия

²ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

*E-mail: lgolik@mail.ru

Поступила в редакцию 01.11.2023 г.

После доработки 02.11.2023 г.

Принята к публикации 03.11.2023 г.

Изучена динамика содержания нейротрансмиттерных аминокислот при однократном введении Ноопепта (дипептидный аналог пирацетама, применяющийся в клинической практике в качестве ноотропного средства) у интактных и алкоголизованных крыс в условиях свободного поведения. Эксперименты выполнены на беспородных крысах-самцах, которым предоставляли 10% раствора этанола в качестве единственного источника жидкости 24 ч / 7 дней в течение 30 недель с последующей алкогольной депривацией ($n = 5$), и интактных крысах того же возраста, не имевших доступа к этанолу ($n = 5$). Определение содержания возбуждающих и тормозных аминокислот во внеклеточном пространстве области дорсального гиппокампа у ненаркотизированных животных проводили с помощью метода внутримозгового микродиализа с последующей ВЭЖХ/ЭД. На фоне продолжительной алкогольной «абстиненции» зарегистрировано отсутствие значимых различий в содержании нейромедиаторных аминокислот между алкоголизованными и интактными животными. Впервые в опытах *in vivo* показано влияние однократного введения Ноопепта (1.5 мг/кг, в/б) на уровень возбуждающих аминокислот (увеличение содержания аспартата в 2.38 раза и глутамата в 2.28 раза) наряду с повышением концентрации тормозной аминокислоты глицина в 3.13 раза в период с 20-й до 40-й минуты только у интактных крыс. Таким образом, у алкоголизованных крыс на фоне адаптивных перестроек в длительном периоде отмены этанола нейрохимические механизмы гиппокампа, по-видимому, характеризуются нечувствительностью к однократному действию Ноопепта. Исследования на животных нейрохимических изменений в содержании медиаторных аминокислот вследствие длительного действия этанола на ЦНС могут иметь практическое значение для разработки оптимальных стратегий и схем фармакотерапии.

Ключевые слова: ноопепт, этанол, микродиализ, крысы, гиппокамп, нейротрансмиттерные аминокислоты, ВЭЖХ

DOI: 10.31857/S1027813324020063, **EDN:** ETGKEA

ВВЕДЕНИЕ

Многочисленные экспериментальные модели алкоголизма предполагают структурные и функциональные нарушения в гиппокампе, который опосредует влияние этанола на когнитивные процессы [1] и отвечает за развитие нейрокогнитивного дефицита у пациентов наркологического профиля [2]. Изменения под действием алкоголя глутаматергической нейротрансмиссии в гиппокампе во многом определяют гиппокамп-зависимые нарушения обучения и памяти [3]. Развитие

изменений происходит в глутаматергической системе под действием длительного потребления этанола. Нейропластичность глутаматергических механизмов при экспозиции с этанолом зависит от ряда факторов, среди которых существенная роль принадлежит длительности воздействия алкоголя и продолжительности последующей алкогольной депривации [4, 5]. В целом, краткосрочное действие этанола в остром опыте проявляется в снижении интенсивности глутаматергической нейротрансмиссии за счет подавления рецепторов

N-метил-D-аспартата (NMDA) и α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (AMPA), тогда как при хроническом действии, напротив, наблюдается увеличение уровня глутамата за счет воздействия на NMDA-рецепторы и стимуляции высвобождения глутамата [6]. Изменения в содержании γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) и ее ГАМК_A-рецепторов в условиях хронического потребления этанола могут быть причиной поведенческих нарушений, наблюдаемых при лишении доступа к этанолу крыс с уже сформировавшейся зависимостью [7]. Продолжительное воздействие этанола приводит к снижению долговременной потенциации (LTP) — одного из основных клеточных механизмов, лежащих в основе обучения и памяти, и усиливает пресинаптическую регуляцию высвобождения ГАМК в гиппокампе [8]. Поскольку при хроническом алкоголизме заметно снижаются когнитивные функции, в клинические программы реабилитации пациентов с пристрастием к алкоголю включают лекарственные средства для коррекции алкоголь-индуцированных нарушений памяти, среди которых важное место отводится препаратам с ноотропным действием [9].

Ноопепт — дипептидный аналог пирацетама, применяющийся в клинической практике в качестве ноотропного средства, обладает комплексным механизмом действия, оказывая непосредственное действие на синаптические структуры в гиппокампе [10]. Ноопепт снижает спонтанное и K^+ -стимулированное высвобождение глутамата на срезах коры головного мозга крыс линии Wistar, усиливает тормозные постсинаптические токи, регистрируемые методом patch-clamp в пирамидных нейронах, увеличивает динамику ионов Ca^{2+} в срезах гиппокампа крыс, что может быть связано с увеличением ГАМК-ергической активности [10]. При анализе нейрохимических механизмов действия препарата выполнялись исследования влияния ноопепта на суммарное (клеточное и внеклеточное) содержание медиаторных аминокислот в отдельных корковых и подкорковых структурах мозга у мышей [11]. В опытах *ex vivo* при моделировании продолжительной алкогольной абстиненции ноопепт, в отличие от пирацетама, при субхроническом системном введении снижал повышенное в гиппокампе крыс содержание глутамата и ГАМК до значений неалкоголизированного контроля [12]. Однако данные о влиянии ноопепта *per se* при остром введении на внеклеточное содержание возбуждающих и тормозных аминокислот в настоящее время отсутствуют.

Поскольку исследования на животных нейрохимических изменений в содержании различных медиаторных аминокислот вследствие длительного действия этанола на ЦНС могут иметь практическое значение для разработки оптимальных стратегий лечения и схем реабилитации, целью данной

работы являлось изучение эффектов однократного введения ноопепта на содержание нейротрансмиттерных аминокислот в гиппокампе свободноподвижных интактных и алкоголизированных крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использованы аутбредные крысы-самцы массой тела 500—540 г, $n = 10$, полученные из питомника лабораторных животных филиала “Столбовая” ФГБУН “Научный центр биомедицинских технологий ФМБА” (Московская область). Все животные содержались в соответствии с СП 2.2.1.3218-14 от 29 августа 2014 г. № 51 “Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)” в клетках стандарта Т/3 в условиях вивария при регулируемом световом режиме 12 ч / 12 ч (свет/темнота) и постоянной температуре (21—23°C) со свободным доступом к воде и гранулированному корму (ГОСТ Р 50258—92) в течение 10 сут до начала эксперимента. Организация и проведение работ осуществлялись в соответствии с директивой Совета Европейского сообщества 2010/63/ЕЕС, решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 81 “Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств” и приказом Минздрава России от 1 апреля 2016 г. № 199 “Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики”, а также в соответствии с Правилами работы с животными, утвержденными биоэтической комиссией ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”.

Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике (протокол № 5 от 14 октября 2020 г.).

Моделирование хронического потребления алкоголя осуществляли на крысах, которые содержались в индивидуальных клетках с предоставлением 10%-ного раствора этанола в качестве единственного источника жидкости в течение 30 недель в соответствии с ранее описанной методикой [13] с последующей 7-дневной алкогольной депривацией ($n = 5$). Интактные животные не имели доступа к этанолу ($n = 5$). Среднесуточное потребление алкоголя находилось в пределах 5.2—6.1 г/кг в пересчете на чистый этанол, что соответствует многолетним лабораторным показателям по потреблению раствора этанола у крыс [12, 13].

Эксперименты по определению содержания аминокислот проводили по окончании восстановительного периода на 9-й день после отмены раствора этанола (рис. 1).

Определение содержания аминокислот во внеклеточном пространстве области дорсального гиппокампа в динамике в условиях свободного поведения животных производили с помощью метода внутримозгового микродиализа [14].

Операции по вживлению направляющих канюль микродиализных зондов проводили на 7-й день прекращения доступа к алкоголю под смешанным наркозом при введении золетила внутрибрюшинно (в/б) в дозе 0.5 мг/кг и ксилазина в/б в дозе 20 мг/кг. Координаты вживления направляющих канюль в соответствии с атласом [15] составляли AP = -4.5 мм и Lat = 3.0 мм от брегмы, Vent = 2.2 мм от поверхности черепа. Через 48 ч после операции бодрствующим свободноподвижным животным в направляющие канюли вводили микродиализные зонды. Использовали концентрические зонды CMA 12 (CMA Microdialysis, Sweden) с размером пор 20 кДа и длиной мембранной части 2.0 мм. Таким образом, в соответствии с координатами имплантации направляющих канюль мембранная часть микродиализного зонда располагалась в структурах дорсального гиппокампа в диапазоне вентральных координат Vent = 2.2—4.2 мм от поверхности черепа (рис. 2).

После введения микродиализных зондов в направляющие канюли начинали перфузию искусственной цереброспинальной жидкостью. Искусственную цереброспинальную жидкость готовили непосредственно перед опытом из деионизированной воды. Ее состав включал в себя следующие компоненты: NaCl — 8.2 г/л, KCl — 0.225 г/л, CaCl₂ · 2H₂O — 0.355 г/л, MgCl₂ · 6H₂O — 0.205 г/л, Na₂HPO₄ · 2H₂O — 0.215 г/л, NaH₂PO₄ · 2H₂O — 0.042 г/л, глюкоза — 1.3 г/л. Перед использованием раствора искусственной цереброспинальной жидкости контролировали значение его pH, составляющее 7.4.

Перед началом эксперимента зонды перфузировали искусственной цереброспинальной жидкостью в течение 2 ч для установления равновесных концентраций веществ между интерстициальным пространством и внутренним содержимым зондов. Время сбора каждого диализата составляло

20 мин. Схема эксперимента включала в себя последовательный сбор 16-ти диализатов. Первые три диализата собирали у крыс в исходном состоянии. Усредненное значение изучаемых веществ в трех начальных диализатах характеризовали исходный уровень содержания нейромедиаторов и были приняты за 100% (базальный уровень). В начале сбора четвертого диализата животным вводили ноопепт (этиловый эфир N-фенилацетил-L-пролилглицина, омберацетам, субстанция, синтезирована в отделе химии ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”) в дозе 1.5 мг/кг, в/б.

После окончания сбора 16-го диализата крыс декапитировали, извлекали головной мозг и замораживали в жидком азоте для последующего изготовления гистологических срезов в целях проверки положения микродиализных зондов в дорсальном гиппокампе. Срезы изготавливали на замораживающем криотоме ThermoShandon AS620. Толщина срезов составляла 20 мкм. Срезы окрашивали крезилвиолетом по стандартной методике. Результаты гистологического контроля положения микродиализных зондов в дорсальном гиппокампе представлены на рис. 2.

Определение содержания тормозных (ГАМК, глицин, таурин) и возбуждающих (аспартат, глутамат) нейромедиаторных аминокислот в диализатах проводили методом ВЭЖХ/ФД согласно модифицированной методике [11]. К 0.025 мл диализата добавляли 0.05 мл 0.1 н NaOH и 0.025 мл ортофталевого реагента для запуска реакции дериватизации. Через 20 мин 20 мкл полученного деривата подвергали хроматографическому разделению. ГАМК, аспартат, глутамат, таурин, глицин в начальной концентрации 0.1 мкМ/мл в 0.1 н HClO₄ использовали в качестве стандартной смеси для калибровки. Регистрацию продуктов разделения осуществляли на хроматографе с аналитической колонкой Hypersil ODS (4.6 × 250 мм, 5 мкм) и с флуоресцентным детектором Agilent 1100 (США) (длина волны возбуждения — 230 нм, длина волны испускания — 392 нм). Подвижная фаза для определения нейромедиаторных аминокислот состояла из

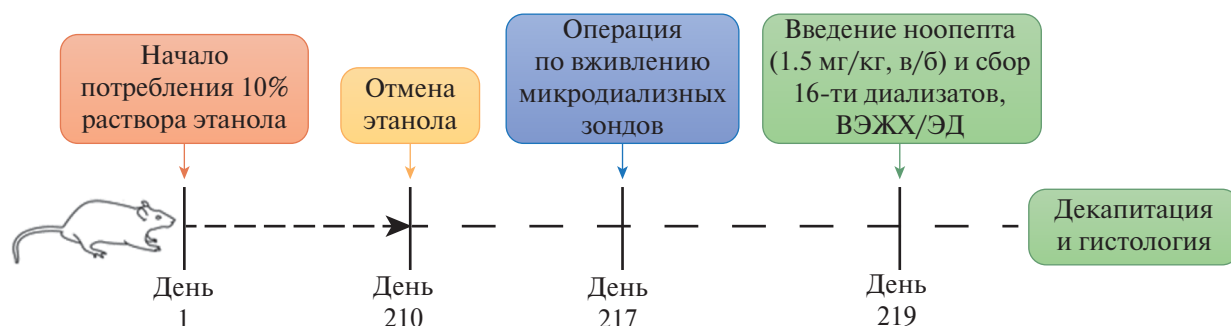


Рис. 1. Дизайн эксперимента.

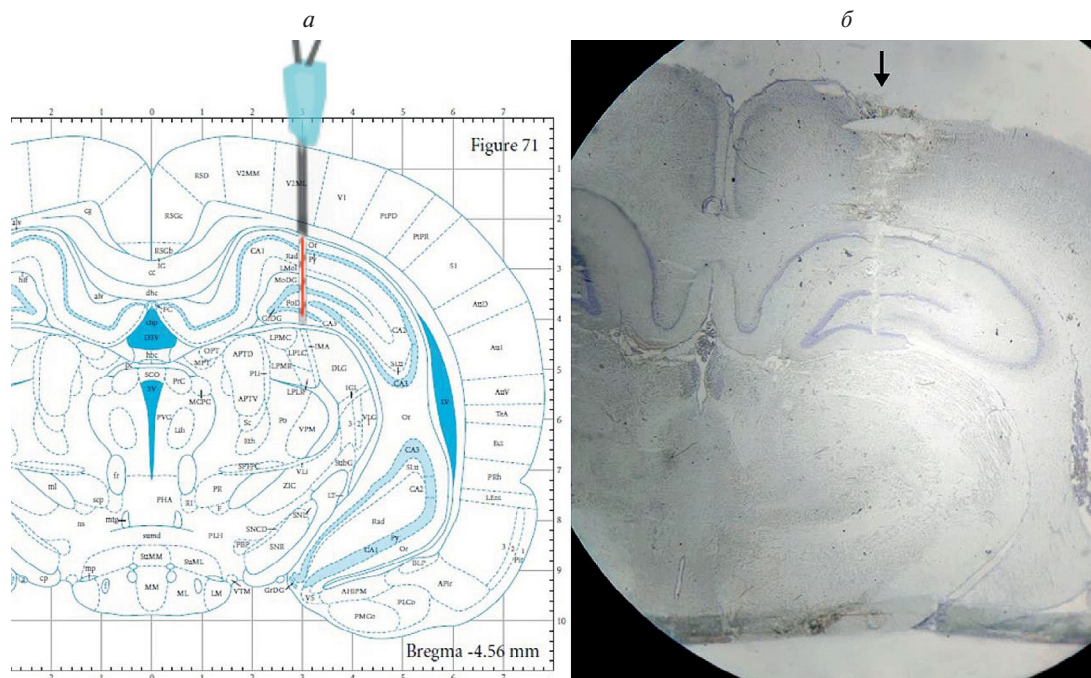


Рис. 2. Схема расположения микродиализного зонда в дорсальном гиппокампе (а) и фотография среза головного мозга крысы (б). Стрелкой обозначено место начала и направление канала следа микродиализного зонда.

0.06 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.0032 M Na_2HPO_4 , 0.025 mM ЭДТА и 1.24 mM CH_3OH , pH = 5.6. Скорость подвижной фазы составляла 1.0 мл/мин. Регистрацию образцов проводили с применением аппаратно-программного комплекса Agilent ChemStation v.B.04.02.

Статистическую обработку полученных результатов проводили в GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, Inc. USA) U-критерия Манна—Уитни, дисперсионного анализа (ANOVA) planned comparison с последующим множественным анализом Ньюмена—Кейлса. Нормальное распределение определялось методами Шапиро—Уилка и Колмогорова—Смирнова. Критический уровень значимости $\alpha = 0.05$. Данные представлены в виде $M \pm \text{SEM}$: M — средние значения, SEM — стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ содержания нейромедиаторных аминокислот в гиппокампе у беспородных крыс показал отсутствие статистически значимых различий между алкоголизированными и неалкоголизированными животными в период длительной алкогольной депривации (см. дизайн эксперимента, рис. 1). При исследовании изменения содержания аминокислот обнаружено, что ноопепт в дозе 1.5 мг/кг при однократном системном введении повышал уровень АСП в 2.38 раз ($p = 0.022966$), ГЛУ — в 2.28 раз ($p = 0.020947$), ГЛИ — в 3.13 раз ($p = 0.003748$) у интактных неалкоголизированных

животных, но не оказывал статистически значимого влияния на уровень измеряемых аминокислот у алкоголизированных животных. Кроме того, у крыс, подвергнутых длительной экспозиции с этанолом, в пятом образце диализата уровень АСП был ниже в 3.6 раз ($p = 0.029759$), а ГЛИ — в 4.93 ($p = 0.047222$) по сравнению с интактными неалкоголизированными животными (рис. 3—7).

ОБСУЖДЕНИЕ

Длительный прием алкоголя вызывает адаптивные изменения, сопровождающиеся устойчивыми перестройками нейрохимических механизмов головного мозга, в том числе путем изменения регуляции аминокислотных нейромедиаторных систем, среди которых выделяют возбуждающие аминокислоты (аспартат и глутамат), активирующие постсинаптические клетки и ингибирующие аминокислоты (ГАМК, глицин и таурин), подавляющие активность постсинаптических клеток. Глутамат является основной возбуждающей аминокислотой в ЦНС и как нейромедиатор играет важную роль при расстройствах, связанных с действием алкоголя [20]. Предполагается, что гипофункция ГАМК-рецепторов и гиперфункция NMDA-рецепторов приводят к усилению поведенческой сенситизации при отмене этанола [16].

В данном исследовании для определения внеклеточного содержания глутамата в гиппокампе был использован метод микродиализа у животных

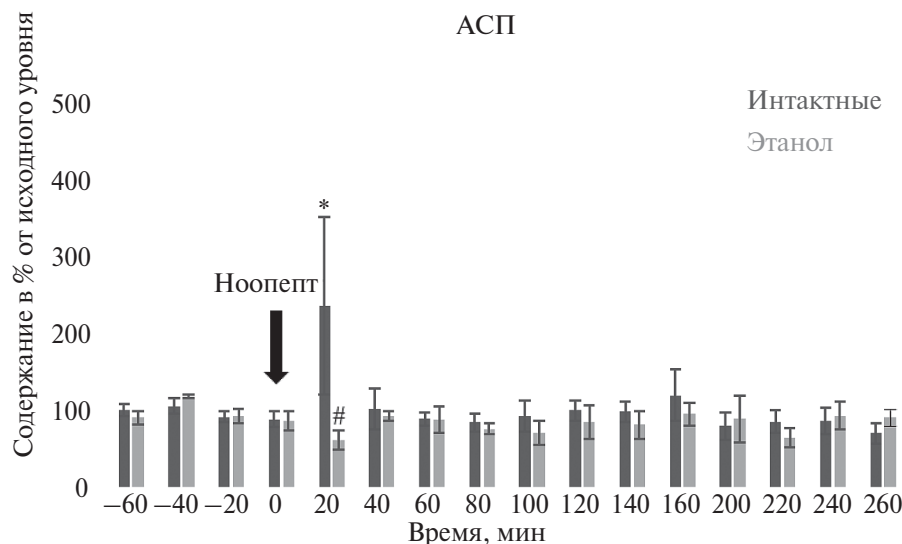


Рис. 3. Влияние однократного системного введения ноопепта на содержание аспартата (АСП) в гиппокампе беспородных крыс. * $p < 0.05$ по сравнению с уровнем в исходном состоянии покоя; # $p < 0.05$ по сравнению с интактными крысами, согласно дисперсионному анализу (ANOVA) planned comparison с последующим множественным анализом Ньюмена—Кейлса.

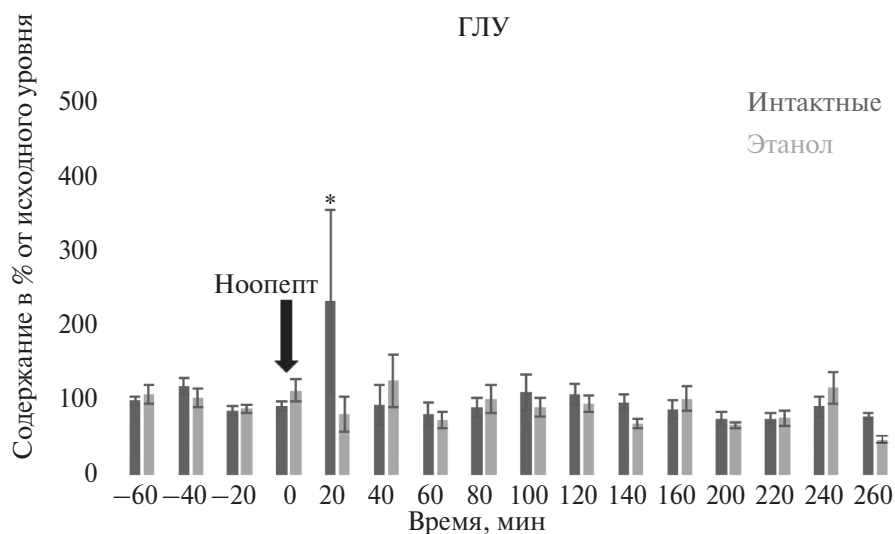


Рис. 4. Влияние однократного системного введения ноопепта на содержание глутамата (ГЛУ) в гиппокампе беспородных крыс. * $p < 0.05$ по сравнению с уровнем в исходном состоянии покоя, согласно дисперсионному анализу (ANOVA) planned comparison с последующим множественным анализом Ньюмена—Кейлса.

в условиях свободного поведения в бодрствующем состоянии. Проведение экспериментов на 9-й день отмены этанола позволяет оценить отдаленные эффекты, развивающиеся в нейромедиаторных системах гиппокампа в ответ на алкогольную депривацию. Имеются многочисленные экспериментальные подтверждения усиления глутаматергической нейротрансмиссии в ранние сроки после отмены этанола, тогда как в отношении содержания глутамата в последующие дни на более поздних

сроках алкогольной депривации данные немногочисленны и противоречивы. Так, увеличение содержания глутамата было обнаружено в вентральном гиппокампе после трехнедельной экспозиции с этанолом в дозе 2 и 3 г/кг в течение двух дней с последующей отменой в течение пяти дней (модель периодического потребления алкоголя на крысах) [17]. Тем не менее данные, полученные с помощью метода магнитного резонанса, свидетельствуют о возвращении к исходному уровню

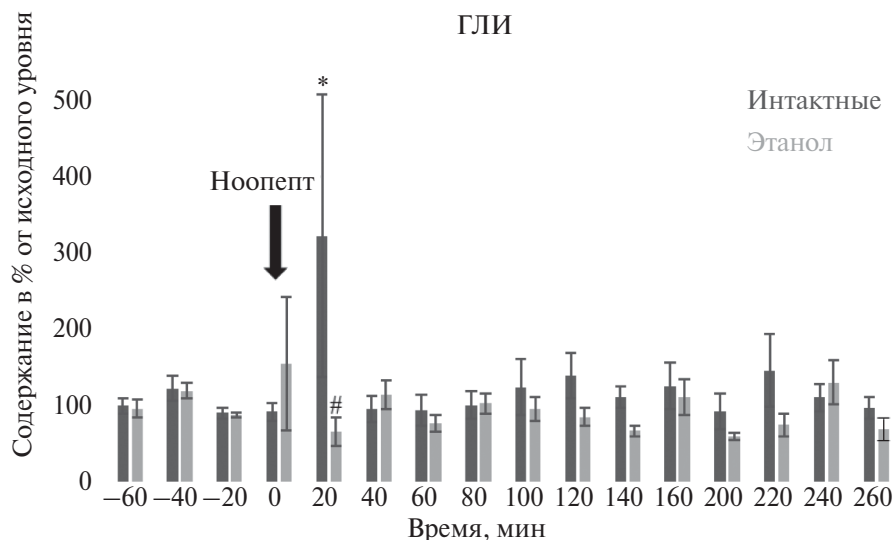


Рис. 5. Влияние ноопепта при однократном системном введении на содержание глицина (ГЛИ) в гиппокампе беспородных крыс. * $p < 0.05$ по сравнению с уровнем в исходном состоянии покоя; # $p < 0.05$ по сравнению с интактными крысами, согласно дисперсионному анализу (ANOVA) planned comparison с последующим множественным анализом Ньюмена—Кейлса.

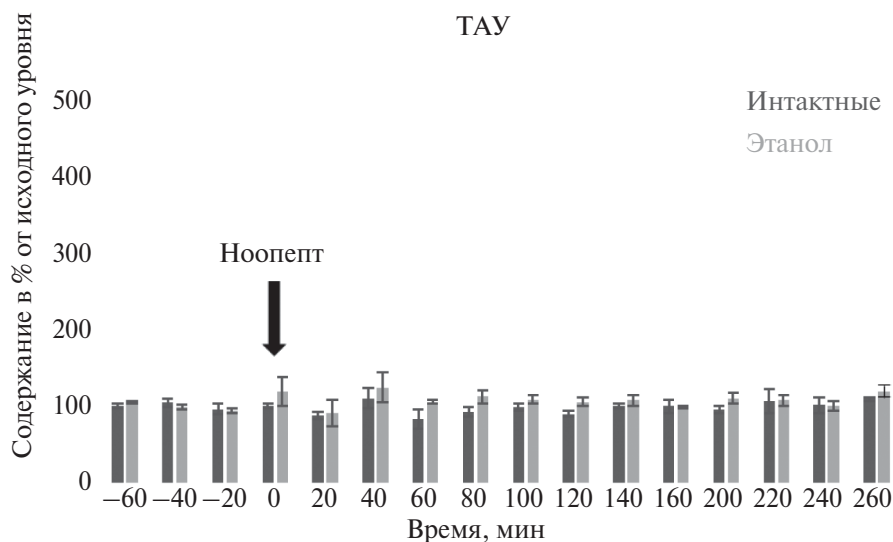


Рис. 6. Влияние ноопепта при однократном системном введении на содержание таурина (ТАУ) в гиппокампе у беспородных крыс.

глутамата в гиппокампе и передней поясной коре в течение трех дней отмены после его повышения на ранних сроках [18]. В другой работе, выполненной методом микродиализа, было показано, что отмена этанола вызывает увеличение содержания глутамата в гиппокампе примерно через 5—8 ч после прекращения ингаляции паров этанола и достигает максимальной величины через 12 ч [19]. Отсутствие резкого увеличения глутамата на фоне продолжительной алкогольной депривации в нашей работе не противоречит этим данным,

поскольку мы проводили измерение уровня медиаторных аминокислот в период продолжительной алкогольной абстиненции.

Известно о способности ноопепта при аппликации на срезы гиппокампа крыс Wistar увеличивать тормозную составляющую суммарного тока в пирамидных нейронах поля CA1, не оказывая влияния на возбуждающий компонент [20]. С другой стороны, в недавних экспериментах *ex vivo* не было обнаружено какого-либо статистически значимого влияния однократного введения ноопепта в дозах

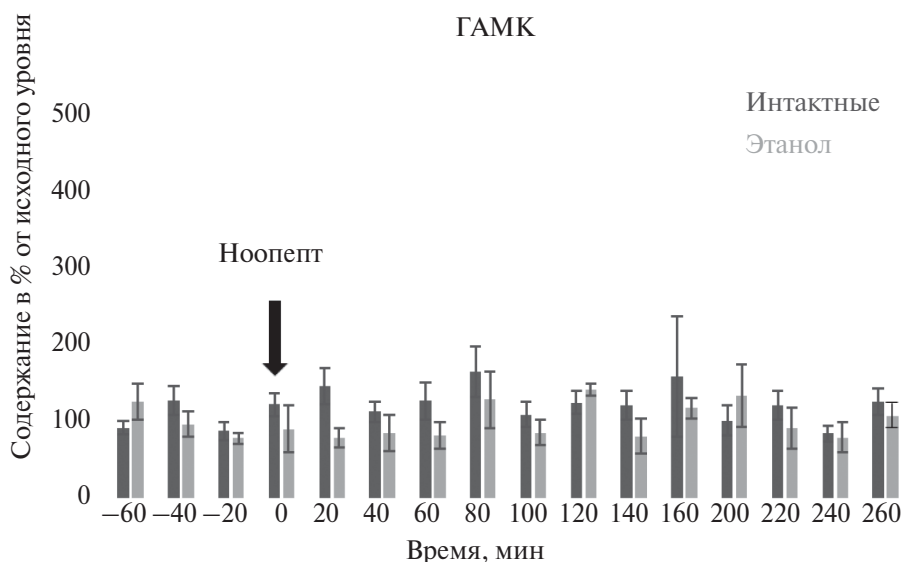


Рис. 7. Влияние ноопепта при однократном системном введении на содержание ГАМК в гиппокампе у беспородных крыс.

0.5 и 2.5 мг/кг, в/б на уровень биогенных моноаминов и аминокислот в гиппокампе у интактных мышей линий C57Bl/6 и BALB/c [11]. В нашей работе впервые у неалкоголизованных интактных крыс в условиях свободного поведения зарегистрировано кратковременное положительное влияние ноопепта на уровень возбуждающих аминокислот (АСП и ГЛУ) наряду с повышением содержания тормозной аминокислоты ГЛИ в гиппокампе в период с 20-й по 40-ю минуту после введения препарата. Эти результаты коррелируют с данными, полученными при анализе частотных спектров электроэнцефалограммы гиппокампа у ненаркотизированных крыс, когда ноопепт (0.2 мг/кг) увеличивал активность альфа/бета-1 ритмов продолжительностью 40 мин, при этом антагонист NMDA-рецепторов, предварительно введенный непосредственно в желудочки головного мозга, полностью подавлял эффекты препарата [21]. Изучению глутаматергического компонента в механизме действия ноопепта посвящено несколько работ. Так, в опытах *in vitro* с помощью радиолигандного анализа было обнаружено прямое взаимодействие ноопепта с глутаматными AMPA-рецепторами при неэффективности в отношении NMDA- и mGlu-рецепторов [22]. С другой стороны, в последующих опытах *ex vivo* при однократном введении ноопепта в дозе 1 мг/кг, в/б, у мышей C57Bl/6, но не у BALB/c, регистрировали увеличение плотности NMDA-рецепторов на 26% [28].

Показанное в работе Nalini K. et al. (1992) отсутствие каких-либо изменений в уровнях ГАМК в головном мозге крыс (контроль — 1.41 ± 0.29 ; пираретам в дозе 50 мг/кг/15 дней перорально — 1.52 ± 0.26 , мг/г ткани мозга) исключает

возможность ГАМК-миметического действия пираретама в опосредовании его фармакологических эффектов [24]. Сходная ситуация наблюдалась при оценке возможного участия ГАМК-ергических механизмов при реализации действия ноопепта при однократном введении у интактных мышей в отдельных структурах мозга (фронтальная кора, стриатум, гипоталамус и гиппокамп) в опытах *ex vivo* [11], а также в гиппокампе у свободноподвижных взрослых алкоголизованных и неалкоголизованных крыс. Следует подчеркнуть, что для ноопепта характерно именно модулирующее действие при субхроническом семидневном введении в дозе 1.5 мг/кг, которое проявляется в условиях алкогольной депривации у крыс со сформированной алкогольной мотивацией не только в отношении нормализации уровня ГАМК и ГЛУ в гиппокампе, но и на функциональном уровне в тесте “распознавание нового объекта”, при этом самостоятельного эффекта препарата у “взрослых” неалкоголизованных крыс выявлено не было [12]. В целом, такие исследования могут помочь в понимании нейробиологических механизмов при оценке эффективности потенциальных лекарственных средств для терапии на этапе реабилитации и восстановления когнитивных функций и психоэмоционального состояния при отказе от алкоголя.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе показано участие возбуждающих и тормозных нейромедиаторных аминокислот в нейрохимических изменениях в гиппокампе на фоне длительной алкогольной депривации после

30-недельного воздействия этанола на ЦНС. Обнаружено, что гиппокампальные механизмы, связанные с глутаматом, аспартатом и глицином, становятся нечувствительными к ноопепту, что выражается в отсутствии изменения их внеклеточного содержания на фоне однократного введения препарата алкоголизованным крысам в отличие от неалкоголизованных крыс того же возраста, у которых зарегистрировано повышение внеклеточного содержания глутамата, аспартата и глицина в период 20–40 мин после системного введения ноопепта. Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о важности понимания нейробиохимических процессов в долгосрочных адаптивных перестройках в условиях длительного потребления алкоголя в целях подбора эффективных схем лечения для коррекции осложнений, возникающих на фоне продолжительной абстиненции.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по теме FGFG-2022-0002.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

Этическое одобрение. Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhao Y.N., Wang F., Fan Y.X., Ping G.F., Yang J.Y., Wu C.F. *Behav Brain Res.* 2013. V. 236. P. 270–282.
2. Mira R.G., Lira M., Tapia-Rojas C., Rebolledo D.L., Quintanilla R.A., Cerpa W. *Front. Behav. Neurosci.* 2020. V. 13. P. A.288.
3. Kutlu M.G., Gould T.J. *Learn Mem.* 2016. V. 23. № 10. P. 515–53.
4. Chefer V., Meis J., Wang G., Kuzmin A., Bakalkin G., Shippenberg T. *Addict. Biol.* 2011. V. 16. P. 229–237.
5. Sepulveda C., Bustos G., Gysling K., Seguel M., Labarca R. *Brain Res.* 1995. V. 674. P. 104–106.
6. Roberto M., Gilpin N.W., Siggins G.R. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012. V. 2. P. A.012195.
7. Littleton J. *Alcohol Health Res.* 1998. V. 22. P. 13–24.
8. Peris J., Eppler B., Hu M., Walker D.W., Hunter B.E., Mason K., Anderson K.J. *Alcohol Clin Exp Res.* 1997 Sep. V. 21. № 6. P. 1047–52.
9. Mistarz N., Andersen K., Nielsen A.S., Goudriaan A.E., Michel T.M., Skot L., Nielsen D.G., Mellentin A.I. *Neurosci Biobehav Rev.* 2021 Jun. V. 125. P. 608–626.
10. Островская Р.У., Гудашева Т.А. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2021. Т. 84. № 2. С. 41–52.
11. Коньков В.Г., Кудрин В.С., Наркевич В.Б., Колик Л.Г. // Нейрохимия. 2022. Т. 39. № 2. С. 160–167.
12. Колик Л.Г., Коньков В.Г., Сорокина А.В., Мирошкина И.А., Касабов К.А., Кудрин В.С., Дурнев А.Д. // Молекулярная медицина. 2022. Т. 20. № 6. С. 56–64.
13. Надорова А.В., Колик Л.Г., Клодт П.М., Наркевич В.Б., Наплёкова П.Л., Козловская М.М., Кудрин В.С. // Нейрохимия. 2014. Т. 31. № 2. С. 147.
14. Parent M., Bush D., Rauw G., Master S., Vaccarino F., Baker G. *Methods.* 2001. V. 23. № 1. P. 11–20.
15. Paxinos G., Watson C. // San Diego, CA: Academic Press, 1998.
16. De Witte P. *Addict Behav.* 2004. V. № 7. P. 1325–39.
17. Ward R.J., Colivicchi M.A., Allen R., Schol F., Lallemand F., de Witte P., Ballini C., Corte L.D., Dexter D. *J. Neurochem.* 2009. V. 111. P. 1119–1128.
18. Hermann D., Weber-Fahr W., Sartorius A., Hoerst M., Frischknecht U., Tunc-Skarka N., Perreau-Lenz S., Hansson A.C., Krumm B., Kiefer F., Spanagel R., Mann K., Ende G., Sommer W.H. *Biol. Psychiatry.* 2012. V. 71. P. 1015–1021.
19. Dahchour A., & De Witte P. *Clinical and Experimental Research.* 1998. V. 22 (A109). 175.
20. Поваров И.С., Кондратенко Р.В., Деревягин В.И., Островская Р.У., Скребицкий В.Г. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2014. Т. 158. № 9. С. 336–338.
21. Vorobyov V., Kaptsov V., Kovalev G., Sengpiel F. *Brain Res Bull.* 2011. May. V. 30, № 85(3–4). P. 123–32.
22. Firstova Iu.Iu., Vasil'eva E.V., Kovalev G.I. *Eksp Klin Farmakol.* 2011. V. 74. № 1. P. 6–10.
23. Kovalev G.I., Kondrakhin E.A., Salimov R.M., Neznamov G.G. *Eksp Klin Farmakol.* 2014. № 77(12). P. 3–9.
24. Nalini K., Karanth K.S., Rao A., Aroor A.R. *Pharmacol Biochem Behav.* 1992. V. 42. № 4. P. 859–64.

Evaluation of Noopept Effect on the Neurotransmitter Amino Acids in the Hippocampus in Alcohol Drinking Rats Using in Vivo Microdialysis

**V. S. Kudrin¹, V. G. Konkov¹, E. V. Shubenina¹, K. A. Kasabov^{1, 2}, D. V. Sadovnik²,
A. H. Khairtdinova², A. E. Umriyukhin², and L. G. Kolik¹**

¹*Federal Research Center for Original and Prospective Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russia*

²*I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia*

The aim of the present work was to study the dynamics of neurotransmitter amino acids after acute Noopept (a dipeptide analogue of piracetam used in clinical practice as a nootropic agent) administration in intact and long-term ethanol (ЕТОН) exposed rats. Albino male rats were given 10% (vol/vol) ЕТОН solution as the only source of fluid 24 h / 7 days per week ($n = 5$). Also we used intact rats of the same age which had no access to ethanol ($n = 5$). The excitatory and inhibitory amino acids in the extracellular space of the dorsal hippocampus region in freely moving intact and ЕТОН-exposed rats during prolonged alcohol deprivation were measured using the intracerebral microdialysis method followed by HPLC/ED. There were no significant differences in the level of neurotransmitter amino acids between ЕТОН-exposed and intact animals. For the first time, in vivo experiments the effect of Noopept (1.5 mg/kg, i.p.) on the level of excitatory amino acids (an increase in ASP by 2.38 times and GLU by 2.28 times) along with an increase in the level of the inhibitory amino acid GLI by 3.13 times only in intact rats was shown. Thus, in ЕТОН-exposed rats under the adaptive rearrangements in prolonged ethanol withdrawal, the neurochemical mechanisms of the hippocampus seem to be characterized by insensitivity to an acute Noopept administration. Animal neurochemical studies of changes in the mediator amino acids due to the long-term effect of alcohol on the CNS may be of practical importance for the development of optimal strategies and pharmacotherapy.

Keywords: noopept, ethanol, microdialysis, rats, hippocampus, neurotransmitter amino acids, HPLC