

PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF NOVEL GABA RE-UPTAKE INHIBITORS IN MICE

WŁAŚCIWOŚCI FARMAKOLOGICZNE NOWYCH INHIBITORÓW WYCHWYTU ZWROTNEGO GABA U MYSZY

PODKOWA Adrian¹, GRZYWA Anna¹, LECHOCKA Anna¹, SZLONZAK Agata¹,
KOWALCZYK Paula², KULIG Katarzyna², FILIPEK Barbara¹, SAŁAT Kinga¹

1. Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, Polska
2. Zakład Fizykochemicznej Analizy Leku, Katedra Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, Polska

Abstract

γ-Aminobutyric acid (GABA) is a widely distributed neurotransmitter in the mammalian central nervous system. The GABAergic neurotransmission is involved in numerous processes, including neuronal excitability and mood disorders. GABA is removed from the synaptic cleft by specific proteins called plasma membrane GABA transporters. In the present work we focus on antinociceptive and antidepressant-like properties of four new GABA re-uptake inhibitors. These compounds are N-benzylamide derivatives of GABA. We also investigate their impact on animal' locomotor activity and motor coordination. All the examined compounds present analgesic activity in the hot plate test. Most of them also demonstrate antidepressant-like properties in the forced swim test in mice. Similarly to tiagabine, the test compounds significantly affect locomotor activity and some of them cause motor coordination impairments. The obtained results suggest that compounds targeting at GABA transporters may exert analgesic and antidepressant-like properties.

Keywords: γ -aminobutyric acid, γ -hydroxybutyric acid, GABA transporters, tiagabine, pain, depression

Corresponding author: dr hab. Kinga Sałat, kinga.salat@uj.edu.pl

Wstęp

Kwas γ -aminomasłowy (GABA) jest głównym neuroprzekaznikiem hamującym w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN). Szacuje się, iż więcej niż jedna trzecia wszystkich neuronów używa GABA w komunikacji synaptycznej. Dysfunkcję układu GABA-ergicznego powiązano z występowaniem takich zaburzeń jak: lęk, stres, bezsenność, zaburzenia procesów poznawczych i pamięci. Układ ten zaangażowany jest również w patogenezę padaczki, w powstawanie drgawek, czy dysfunkcję układu mięśniowo-szkieletowego. Wiele dostępnych obecnie

leków wpływa na różne komponenty tego układu, wzmacniając transmisję GABA-ergiczną, jednak poszukiwane są ciągle nowe związki, których efektem działania będzie nasilenie biologicznej aktywności GABA [1-5].

Jednym ze sposobów wzmocnienia przekazywania GABA-ergicznego jest zahamowanie wychwytu zwrotnego GABA z przestrzeni synaptycznej. Proces ten zachodzi przy udziale błonowych transporterów GABA (GAT)[6]. Obecnie zidentyfikowano pięć różnych transporterów GABA, z których cztery stanowią transportery błonowe (GAT 1-4), natomiast piąty (VGAT, vesicular GABA

transporter) należy do transporterów pęcherzykowych [6-8].

Terminologia transporterów GABA nie jest jednoznaczna. W nomenklaturze istnieją pewne różnice dotyczące oznaczenia odpowiedniego podtypu transportera w zależności od gatunku. Przyczyną tych rozbieżności jest fakt, że mysz transporter GAT2 wykazuje homologię w stosunku do transportera wspólnego dla betainy i GABA (BGT-1), który występuje u innych gatunków, m.in. u ludzi [9]. Według nomenklatury zaproponowanej przez Komisję Nomenklatury Genetycznej HUGO, nazwane są one odpowiednio: GAT1, BGT1, GAT2 i GAT3, z kolei „mysie” transportery oznaczane są jako: GAT1, GAT2, GAT3 i GAT4 [8, 9].

Poszczególne transportery różnią się między sobą powinowactwem do GABA. Wartości K_M dla mysich transporterów GABA wynoszą 7, 79, 18, 0,7 μM odpowiednio dla GAT1, GAT2, GAT3 i GAT4. W związku z tym GAT1, GAT3 oraz GAT4 określane są jako transportery o wysokim powinowactwie (ang. *high-affinity GABA transporters*), podczas gdy czwarty z nich: GAT2, jest transporterem wykazującym niskie powinowactwo do GABA (ang. *low-affinity GABA transporter*) [10, 11]. Wszystkie transportery błonowe GAT należą do rodziny transporterów SLC6. Kodowane są przez różne geny: GAT1 (SLC6a1), GAT2 (SLC6a12), GAT3 (SLC6a13) oraz GAT4 (SLC6a11), ale wykazują wysoką homologię względem siebie. Nazwane są Na^+/Cl^- -zależnymi transporterami, gdyż transport substratu sprzężony jest z przezbłonowym kotransportem jonów Na^+ i Cl^- [7, 12, 13]. Dla transporterów GAT1, GAT3 i GAT4

transport ten zachodzi zgodnie ze stechiometrią $2\text{Na}^+:1\text{Cl}^-:1\text{GABA}$, natomiast dla GAT2: $3\text{Na}^+:2\text{Cl}^-:1\text{GABA}$ [9].

Transportery GABA zlokalizowane są zarówno w OUN, jak i tkankach obwodowych. W OUN najbardziej rozpowszechnionymi transporterami są GAT1 oraz GAT4; GAT1 zlokalizowany jest głównie na presynaptycznych neuronach GABA-ergicznymi, z kolei GAT4 na astrocytach, w bezpośrednim sąsiedztwie z synapsami GABA. Transportery GAT2 oraz GAT3 są mniej obficie zlokalizowane w obrębie OUN, dodatkowo znajdują się w tkankach obwodowych (nerki, wątroba). Z tego względu transportery GAT1 i GAT4 uznawane są za główne białka biorące udział w regulacji transmisji GABA-ergicznej ośrodkowo [6, 9, 10, 13].

Spośród wszystkich zsyntetyzowanych inhibitorów GAT jedynym związkiem zatwierdzonym do stosowania w leczeniu jest tiagabina. Inne związki wykorzystywane są jedynie eksperymentalnie, jako „narzędzia” służące do zbadania właściwości i funkcji biologicznej transporterów GABA. Tiagabina będąca selektywnym inhibitorem GAT1 stosowana jest w leczeniu padaczki skroniowej. Ponadto jej zastosowanie w terapii neuropatii cukrzycowej, a także migreny znajduje się w fazie badań klinicznych. Jej użycie ograniczone jest krótkim okresem półtrwania oraz występującymi objawami niepożądanymi, takimi jak: zawroty głowy, zmęczenie, dezorientacja, drżenia, ataksja czy nerwowość [14]. Pozostałe związki będące inhibitorami błonowych transporterów GABA są szeroko badane, między innymi w aspekcie ich właściwości przeciwdrgawkowych.

Tiagabina wykazuje aktywność w różnych modelach drgawek zwierzęcych, m.in. drgawkach indukowanych chemicznie, czy w drgawkach klonicznych wywołanych elektryczną stymulacją obszaru limbicznego [9]. W badaniach *in vivo* wykazano także jej aktywność przeciwlękową, przeciwdepresyjną, a także właściwości przeciwbólowe w modelu bólu ostrego wywołanego bodźcem termicznym [14, 15]. Świadczy to o tym, że błonowe transportery dla GABA mogą stanowić potencjalny cel terapeutyczny nie tylko dla związków o działaniu przeciwdrgawkowym, ale i przeciwdepresyjnym oraz przeciwbólowym.

Celem niniejszej pracy było zbadanie właściwości przeciwbólowych, przeciwdepresyjnych oraz wpływu na aktywność lokomotoryczną i koordynację ruchową nowych *N*-benzyloamidowych pochodnych GABA u myszy.

Materiały i metodyka

Zwierzęta laboratoryjne

W badaniach wykorzystano myszy, samce rasy Swiss Albino (Krf) o masie 18-30 g. Zwierzęta przebywały w standardowych warunkach laboratoryjnych, w temperaturze otoczenia $22\pm 2^\circ\text{C}$, przy zachowaniu 12-godzinne go cyklu świetlnego. Myszom zapewniono nieograniczony dostęp do pokarmu i wody. Wszystkie procedury związane z prowadzeniem badań na zwierzętach zostały zaaprobowane przez I Lokalną Komisję Etyczną ds. Doświadczeń na Zwierzętach działającą przy Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie (ZI/595/2011).

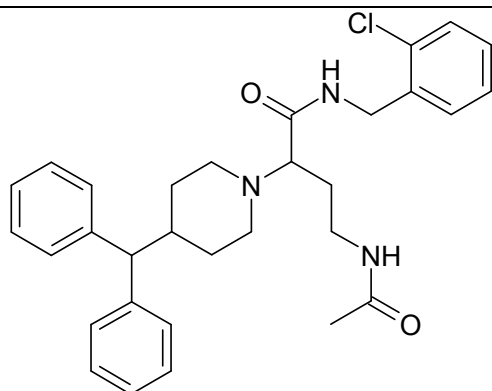
Badane związki

Związki oznaczone symbolami GT118, GT119, GT121 i GT124 zostały zsyntetyzowane w Zakładzie Fizykochemicznej Analizy Leku Katedry Chemii Farmaceutycznej Wydziału Farmaceutycznego UJ. Ich wzory strukturalne przedstawiono w Tabeli 1. Związkiem odniesienia w badaniach była tiagabina (Tocris Bioscience, Wiesbaden-Nordenstadt, Niemcy). Substancje te podawane były myszom w postaci zawiesiny w 0,5% roztworze metylocelulozy drogą dootrzewnową 0,5 h przed testem behawioralnym.

Tab. 1. Wzory strukturalne badanych związków

Symbol	Struktura chemiczna
GT118	
GT119	
GT121	

GT124



Metodyka

Oznaczenie aktywności antynocyceptywnej w teście gorącej płytki

Aktywność przeciwbólową badanych związków oznaczono wg metody opisanej przez Eddy'ego i Leimbacha [16]. Po 0,5 h od dootrzewnowego podania związku badanego lub *vehiculum* myszy umieszczano pojedynczo na termostatowanej płytce ostłej temperaturze 55-56°C. Badano latencję reakcji nocyceptywnej w odpowiedzi na bodziec termiczny. Za reakcję nocyceptywną przyjęto lizanie tylnej kończyny, bądź też podskok zwierzęcia z oderwaniem wszystkich kończyn od podłoża. W celu uniknięcia uszkodzenia tkanek, maksymalny czas obserwacji w tym teście (*cut off*) ustalono na 60 s. Związki działające przeciwbólowo powinny wydłużyć latencję wystąpienia reakcji bólowej w tym teście.

Oznaczenie aktywności przeciwdepresyjnej w teście wymuszonego pływania

Badanie wykonano wg metody opisanej przez Porsolta i wsp. [17]. W celu zbadania działania przeciwdepresyjnego związków, po 0,5 h od ich podania dootrzewnowego, myszy umieszczano pojedynczo w szklanych cylindrach (wysokość 25 cm, średnica 10 cm) wypełnionych wodą do wysokości 10 cm. Test trwał 6 min. Przez pierwsze 2 min mysz

adaptowała się do nowego środowiska; właściwe badanie trwało przez kolejne 4 min. Mierzonym parametrem był czas bezruchu zwierzęcia, rozumiany jako bierne unoszenie się na powierzchni wody; w tym stanie mysz wykonuje tylko minimalne ruchy pozwalające jej na utrzymanie głowy ponad powierzchnią wody. Związki wykazujące aktywność przeciwdepresyjną skracają czas bezruchu w tym teście.

Oznaczenie wpływu na koordynację ruchową w teście pręta obrotowego

Badanie wpływu związków na koordynację ruchową myszy wykonano wg metody opisanej przez Talarek i wsp. [18]. Przed wykonaniem testu myszy były trenowane przez 3 kolejne dni na aparacie (Rotarod Apparatus, May Commat RR0711, Turcja; średnica pręta – 2 cm). Podczas każdej z sesji treningowych myszy umieszczano na pręcie obracającym się z ustaloną prędkością 18 obrotów na minutę (obr/min) na czas 3 minut. Po ewentualnym upadku zwierzęcia z aparatu, było ono powtórnie umieszczane na pręcie.

Właściwy test przeprowadzono 24 h od ostatniej sesji treningowej. Po 0,5 h od podania badanego związku lub *vehiculum* każdą mysz umieszczano na pręcie obracającym się z prędkością 6, 18 lub 24 obr/min. Za każdym razem pręt obracał się z ustaloną prędkością przez 60 s. Zaburzenia koordynacji motorycznej określono, jako niezdolność myszy do utrzymania się na pręcie przez 60 s; zostały one przedstawione, jako średni czas pozostawania na pręcie obrotowym.

Oznaczenie wpływu badanych związków na ruchliwość spontaniczną

Badanie ruchliwości spontanicznej wykonano w aktometrach, klatkach o wymiarach: 40 x 40 x 30 cm, zaopatrzonych w fotokomórki, które połączone były z czujnikiem impulsów.

Po podaniu związku badanego lub *vehiculum* myszy umieszczano pojedynczo w aktometrach. Pierwsze 0,5 h przebywania zwierząt w klatkach było okresem aklimatyzacji do nowego miejsca. Przez następne 0,5 zmierzono ilość wykonanych przez zwierzę ruchów; stan licznika rejestrowany był co 6 min.

Analiza statystyczna wyników

Wyniki zostały przedstawione, jako średnie \pm SEM (błąd standardowy średniej). Do analizy wyników wykorzystano program Graphpad Prism 5 (San Diego, Kalifornia, USA). Do obliczeń statystycznych wykorzystano test t-Studenta, jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) wraz z testem *post hoc* Dunnett'a lub analizę wariancji (ANOVA) zpowtarzalnymi pomiarami oraz test *post hoc* Bonferroni'ego. Różnice były uznawane za istotne statystycznie, jeżeli $p < 0,05$.

Wyniki

Aktywność antynocyceptywna w teście gorącej płytki

Wszystkie badane związki w dawkach 7,5, 15 i 30 mg/kg wydłużały latencję reakcji bólowej w tym teście. Wyniki były istotne statystycznie ($p < 0,05$) w przypadku wszystkich związków oprócz GT121 w dawce 15 mg/kg. Najsilniejsze działanie przeciwbólowe w tym teście wykazał związek GT121 w dawce 30 mg/kg. Wydłużał on latencję reakcji nocyceptywnej o 74,75% ($p < 0,001$)

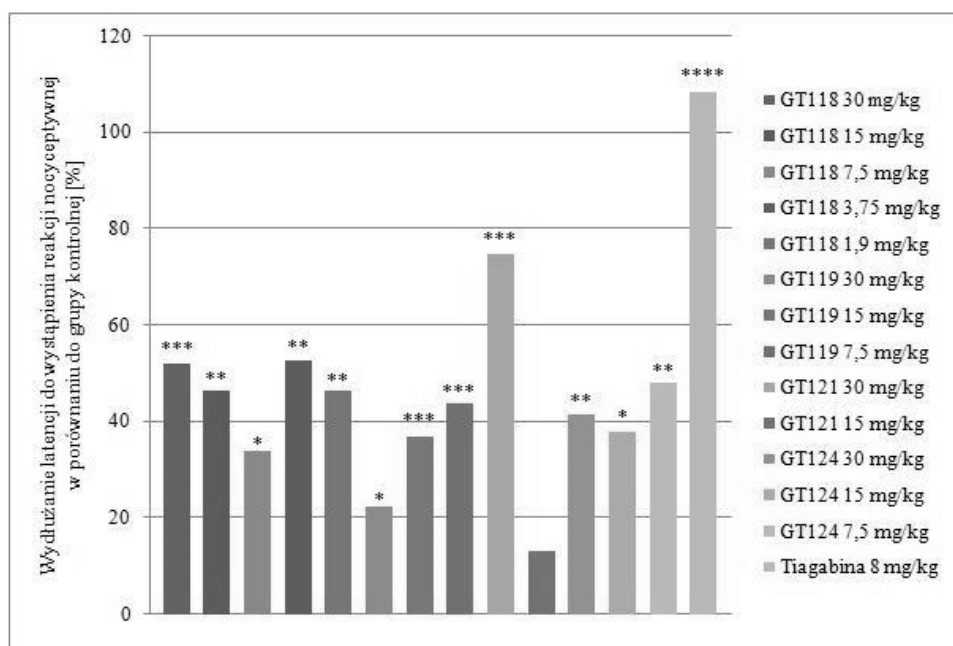
w porównaniu z grupą kontrolną. Z kolei związek GT118 działał przeciwbólowo nawet w niskiej dawce (1,9 mg/kg), wydłużając latencję wystąpienia reakcji bólowej o 46,4% ($p < 0,01$) w porównaniu z grupą kontrolną zwierząt. Związek referencyjny (tiagabina) również wykazywał aktywność przeciwbólową w teście gorącej płytki: w dawce 8 mg/kg wydłużał latencję reakcji nocyceptywnej o 108,38% ($p < 0,0001$) (Ryc. 1).

Aktywność przeciwdepresyjna w teście wymuszonego pływania

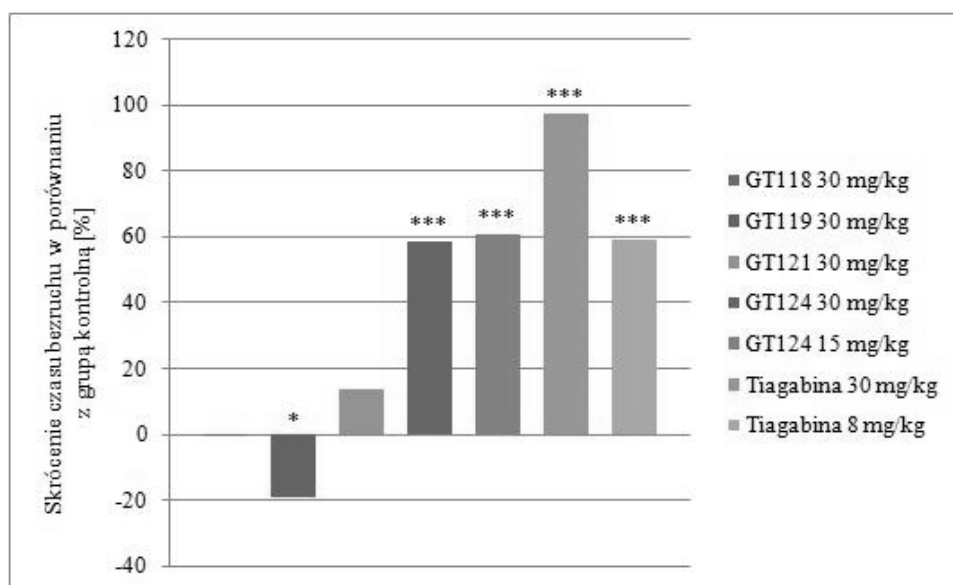
Najsilniejsze działanie przeciwdepresyjne w tym teście wykazał związek GT124, który w dawkach 15 i 30 mg/kg skracał czas bezruchu myszy odpowiednio o 60,56% ($p < 0,001$) i 58,84% ($p < 0,001$) w porównaniu do grupy kontrolnej zwierząt. Związek GT119 w dawce 30 mg/kg wydłużał czas immobilizacji w porównaniu z grupą kontrolną myszy ($p < 0,05$). Związek referencyjny w tym teście, tiagabina, której aktywność badano w dawkach 8 i 30 mg/kg, skracała czas bezruchu odpowiednio o 59,01% ($p < 0,001$) i 97,42% ($p < 0,001$) w porównaniu do grupy kontrolnej (Ryc. 2).

Wpływ na ruchliwość spontaniczną

Najsilniejsze hamowanie ruchliwości zaobserwowano u zwierząt, którym podano związki GT119, GT124 (dawka 30 mg/kg) oraz tiagabinę w dawce 8 mg/kg. Również związek GT121 zmniejszał ruchliwość myszy ($p < 0,05$). Z kolei związek GT118 nie wpływał na ten parametr.



Ryc. 1. Aktywność przeciwbólowa badanych związków w teście gorącej płytki wyrażona jako wydłużenie latencji reakcji nocyceptywnej w odpowiedzi na bodziec termiczny. n=8-9. Znamienność statystyczna w porównaniu z grupą kontrolną (jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA, test *post hoc* Dunnett'a): * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$



Ryc. 2. Aktywność przeciwdepresyjna badanych związków w teście wymuszonego pływania. n=8-9. Analiza statystyczna: test t-Studenta lub jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA oraz test *post hoc* Dunnett'a. Znamienność statystyczna w porównaniu z grupą kontrolną: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$

Dyskusja

Badane związki są benzyloamidami kwasu γ -aminomasłowego (GABA). Poprzez modyfikację struktury GABA uzyskano szereg związków, wykazujących powinowactwo do

transporterów GABA. Modyfikacje struktury macierzystego związku polegały na zacetylowaniu wolnej grupy aminowej oraz wprowadzeniu w położenie 2 tego kwasu bogatego w elektrony podstawnika difenylometylopipery-

dynowego (GT118, GT119, GT121) lub difenylometylenopiperydynowego (GT124). Obie te modyfikacje istotnie warunkują aktywność badanych związków [8].

Oznaczenie powinowactwa badanych związków do poszczególnych typów transporterów GABA (GAT1-4) zostało przeprowadzone w warunkach *in vitro*, z wykorzystaniem stabilnie transfekowanych komórek linii HEK-293. Określono ich wpływ na wychwytywanie $[^3\text{H}]$ GABA. Związki uznano za aktywne, jeśli przy stężeniu 100 μM hamowały wychwytywanie GABA przynajmniej o 50%. Powinowactwo zostało przedstawione jako wartość IC_{50} , wyrażone w μM [22].

Wyraźną preferencję do transportera GAT1 wykazały związki: GT118, GT121 oraz GT124, a ich wartości IC_{50} wyniosły odpowiednio: 10,96 μM ; 16,98 μM i 5,37 μM . Wartości powinowactwa do transporterów GAT2-4 były 2-8 razy większe. Z kolei związek GT119 zademonstrował niespecyficzną aktywność: GAT1 (IC_{50} –19,05 μM), GAT2 (IC_{50} –23,99 μM), GAT3 (IC_{50} –14,45 μM). W przeprowadzonych badaniach wykorzystano również jako związek referencyjny tiagabinę, pochodną kwasu nipekotynowego, będącą selektywnym inhibitorem GAT1 (IC_{50} – 0,8 μM) [6,8,23].

Powinowactwo związków do odpowiedniego typu transportera jest ważnym czynnikiem warunkującym ich aktywność farmakologiczną. W przeprowadzonych badaniach zaobserwowano, że nawet niewielkie różnice w ich profilu powinowactwa mają swoje odzwierciedlenie w działaniu biologicznym, co z kolei sugeruje, że rodzina błonowych transporterów GABA nie jest jednolitą populacją, a pomiędzy poszczególnymi

podtypami transporterów istnieje wysoka heterogenność pod względem pełnionych funkcji w organizmie człowieka. Jest to w głównej mierze związane z ich różnorodną lokalizacją [7].

Aktywność antynocyceptywną w modelu bólu ostrego indukowanego bodźcem termicznym wykazały wszystkie badane związki: GT118, GT119, GT121 oraz GT124. Podobny efekt uzyskano dla tiagabiny. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że efekt antynocyceptywny wykazany przez badane związki związany jest z ich aktywnością hamującą w stosunku do transportera GAT1. Jednakże z uwagi na fakt, iż wszystkie badane związki, za wyjątkiem GT118, obniżały istotnie statystycznie aktywność lokomotoryczną zwierząt w teście ruchliwości spontanicznej, wyniki otrzymane w teście gorącej płytki mogą być fałszywie dodatnie, a wydłużenie czasu reakcji nocyceptywnej wynikać może nie z antynocyceptywnego działania związków, lecz nadmiernej sedacji zwierząt.

Badania innych autorów wskazują na udział transportera GAT1 w mechanizmie modulacji przewodzenia bólu. Zaobserwowano, że u myszy pozbawionych transporterów GAT1 dochodzi do hipotalgii, podczas gdy myszy z nadekspresją tego transportera wykazują efekt hiperalgii [24, 25]. Z kolei w zwierzęcym modelu bólu neuropatycznego (model luźnego podwiązania nerwu kulszowego) zaobserwowano wzrost liczby transporterów GAT1 w obszarze części grzbietowej rdzenia kręgowego [26]. Aktywność przeciwbólowa inhibitorów GAT1 najprawdopodobniej wywołana jest wzrostem stężenia GABA (w szczególności w okolicy części grzbietowej

rdzenia kręgowego), aktywacją presynaptycznych receptorów GABA_A oraz GABA_B i spadkiem uwalniania substancji pronocypetywnych, m.in. aminokwasów pobudzających [27].

Wysoką aktywność przeciwdepresyjną w teście wymuszonego pływania wykazał związek GT124, a także tiagabina. Oba związki hamują transporter GAT1. Z kolei związek GT119 wydłużał czas trwania bezruchu zwierząt, co może być wynikiem silnie sedatywnego działania tej pochodnej, który to efekt zaobserwowano w teście spontanicznej aktywności lokomotorycznej. Wcześniejsze badania wykazały przeciwdepresyjną aktywność tiagabiny w tym modelu depresji, zarówno po podaniu jednorazowym, jak i przewlekłym. Po chronicznym podaniu tiagabiny zaobserwowano wzrost liczby receptorów GABA_A, a także spadek liczby receptorów GABA_B. Sugeruje się więc, że receptor GABA_B pełni rolę w indukcji zachowań pro-depresyjnych, a jego antagoniści wykazują właściwości przeciwdepresyjne [14]. Również u myszy pozbawionych transporterów GAT1 zaobserwowano podobny efekt w obszarze hipokampa [28]. Transporter GAT1 ma najprawdopodobniej również wpływ na aktywność osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (ang. *hypothalamic-pituitary-adrenalaxis*, HPA); inhibitory GAT1 obniżają aktywność osi HPA, zmniejszając przy tym poziom hormonu stresu [14]. Transportery GAT1 obficie zlokalizowane są w obszarze hipokampa oraz kory przedczołowej; u pacjentów chorych na depresję zaobserwowano spadek aktywności GABA-ergicznej w tym obszarze, w związku z tym transportery GAT1

mogą stać się potencjalnym celem terapeutycznym dla leków przeciwdepresyjnych [29].

Zaburzenia koordynacji ruchowej wywołane zostały przez związki, które wykazywały wysokie powinowactwo do transportera GAT1. Najsilniej funkcje motoryczne zaburzała tiagabina. Podobne efekty są obserwowane u myszy pozbawionych transportera GAT1. U pacjentów leczonych tiagabiną częstym efektem niepożądanym jest ataksja. Również obniżenie aktywności lokomotorycznej zwierząt i obserwowane w teście pręta obrotowego zaburzenia koordynacji motorycznej są najprawdopodobniej wynikiem hamowania właśnie transportera GAT1. Potwierdza to fakt, że najsilniejszą sedację u zwierząt wywoływały związki wykazujące wysokie powinowactwo do transportera GAT1 [30].

Podsumowując, błonowe transportery GABA pełnią istotną rolę w OUN i stanowią potencjalny cel terapeutyczny w terapii wielu schorzeń związanych z zaburzeniem przekątnictwa GABA-ergicznego. Jak wykazano w badaniach, inhibitory transporterów GABA mogą znaleźć w przyszłości zastosowanie terapeutyczne nie tylko, jako związki o właściwościach przeciwdrgawkowych, ale również przeciwbólowych oraz przeciwdepresyjnych.

Resumo

Gamaminobuterata acido (GABA) estas amplekse disvastigita neurotransmisilo en la centra nervoza sistemo de mamuloj. Per-GABA neurotransmisio gravas en multaj procedoj kiel ekzemple neurona ekscitebleco kaj afekciaj malsanoj. GABA estas forigita el la sinapa fendeto per specialaj proteinoj, la tiel nomitaj plasmamembranaj GABA-transportantoj. En tiu ĉi esploralaboro ni fokusigas antinocajn kaj antidepresiajn ecojn de kvar novaj GABA-reenpreninhibitoroj. Tiuj substancoj estas N-benzilamidaj derivaĵoj de GABA. Ni plie esploras ilian

efikon al motora aktiveco kaj motora kunordigebleco de bestoj. Ĉiuj ekzamenitaj substancoj montras kontraudoloran kapablon dum la testo per la varmega plado. La plejmulto el ili ankau montras ecojn similaj al antidepresiaj substancoj dum la testo per deviga naĝado de musoj. Simile al tiagabino la testsubstancoj havas konsiderindan efikon al motora aktiveco kaj kelkaj el ili kuzas malfunkciadon de motora kunordigebleco. La produktitaj rezultoj montras, ke substancoj celitaj al GABA-transportanoj povas havi kontraudolorajn ecojn kaj ecojn simile al antidepresiaj substancoj.

References:

- 1 Foster, A. C.; Kemp, J. A.; *Curr. Opin. Pharmacol.* 2006, 6 (1), 7–17.
- 2 Ramachandran, P. V.; Shekhar, A.; *Future Med. Chem.* 2011, 3 (2), 139–140.
- 3 Obata, K.; *Jpn. Acad.* 2013, 4 (89), 139–151.
- 4 Schousboe, A.; Waagepetersen, H. S.; *Prog. Brain Res.* 2007, 160, 9–19.
- 5 Caputi, A.; Melzer, S.; Michael, M.; Monyer, H.; *Curr. Opin. Neurobiol.* 2013, 23, 179–186.
- 6 Schousboe, A.; Sarup, A.; Larsson, O. M.; White, H. S.; *Biochem. Pharmacol.* 2004, 68 (8), 1557–1563.
- 7 Borden, L.A.; *Neurochem. Int.* 1996, 29 (4), 335–356.
- 8 Kowalczyk, P.; Sałat, K.; Hofner, G. C.; Guzior, N.; Filipek, B.; Wanner, K. T.; Kulig, K.; *Bioorg. Med. Chem.* 2013, 21 (17), 5154–5167.
- 9 Dalby, N. O.; *Eur. J. Pharmacol.* 2003, 479, 127–137.
- 10 Madsen, K. K.; White, H. S.; Schousboe, A.; *Pharmacol. Ther.* 2010, 125, 394–401.
- 11 Sałat, K.; Kulig, K.; Sałat, R.; Filipek, B.; Malawska, B.; *Pharmacol. Rep.* 2012, 64(1), 102–112.
- 12 Pramod, A. B.; Foster, J.; Carvelli, L.; Henry, L. K.; *Mol. Aspects Med.* 2013, 34, 197–219.
- 13 Eulenburg, V.; Gomeza, J.; *Brain Res. Rev.* 2010, 63 (1-2), 103–112.
- 14 Thoeringer, C. K.; Erhardt, A.; Sillaber, I.; Mueller, M. B.; Ohl, F.; Holsboer, F.; Keck, M. E.; *J. Psychopharmacol. (Oxf.)* 2010, 24 (5), 733–743.
- 15 Ipponi, A.; Lamberti, C.; Medica, A.; Bartolini, A.; Malmberg-Aiello, P.; *Eur. J. Pharmacol.* 1999, 368 (2–3), 205–211.
- 16 Eddy, N. B.; Leimbach, D.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1953, 107 (3), 385–393.
- 17 Porsolt, R. D.; Bertin, A.; Jalfre, M.; *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 1977, 229 (2), 327–336.
- 18 Talarek, S.; Orzelska, J.; Listos, J.; Fidecka, S.; *Pharmacol. Rep.* 2010, 62, 627–634.
- 19 Bay, T.; Eghorn, L. F.; Klein, A. B.; Wellendorph, P.; *Biochem. Pharmacol.* 2014, 87, 220–228.
- 20 Waszkielewicz, A.; Bojarski, J.; *Pol. J. Pharmacol.* 2004, 56, 43–49.
- 21 Snead, C. O.; Gibson, M. K.; *N. Engl. J. Med.* 2005, 352 (26), 2721–2731.
- 22 Kulig, K.; Więckowski, K.; Więckowska, A.; Gajda, J.; Pochwat, B.; Hofner, G. C.; Malawska, B.; *Eur. J. Med. Chem.* 2011, 46 (1), 183–190.
- 23 Clausen, R. P.; Frolund, B.; Larsson, O. M.; Schousboe, A.; Krogsgaard-Larsen, P.; White, H. S.; *Neurochem. Int.* 2006, 48 (6–7), 637–642.
- 24 Xu, Y. F.; Cai, Y. Q.; Cai, G. Q.; Jiang, J.; Sheng, Z. J.; Wang, Z. G.; Fei, J.; *J. Neurosci. Res.* 2008, 86 (2), 465–470.
- 25 Hu, J. H.; Yang, N.; Ma, Y. H.; Zhou, X. G.; Jiang, J.; Duan, S. H.; Mei, Z. T.; Fei, J.; Guo, L. H.; *J. Neurosci. Res.* 2003, 15, 73(4), 565–572.
- 26 Daemen, M. A. R. C.; Hoogland, G.; Cijntje, J.-M.; Spincemille, G. H.; *Neurosci. Lett.* 2008, 444, 112–115.
- 27 Smith, C. G. S.; Bowery, N. G.; Whitehead, K. J.; *Neuropharmacology*, 2007, 53, 975–981.
- 28 Jensen, K.; Chiu, C. S.; Sokolova, I.; Lester, H. A.; Mody, I.; *J. Neurophysiol.* 2003, 90, 2690–2701.
- 29 Möhler, H.; *Neuropharmacology* 2012, 62, 42–53.
- 30 Chi-Sung, C.; Brickley, S.; Jensen, K.; Southwell, A.; McKinney, S.; Cull-Candy, S.; Mody, I.; Lester, H. A.; *J. Neurosci.* 2005, 25 (8), 3234–3245.