

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНЫЕ ЭФФЕКТЫ КОНЬЮГАТА ГАМК С ПРОСТАГЛАНДИНОМ E₂ В СРАВНЕНИИ С ПРОСТАГЛАНДИНОМ E₂

А. В. Горбунова¹, Т. С. Ганьшина¹, Н. М. Грецкая², В. В. Безуглов², Р. С. Мирзоян¹

Проведенные опыты позволили установить, что конъюгат ГАМК с простагландином E₂ увеличивает кровоснабжение мозга крыс, перенесших глобальную преходящую ишемию, не оказывая влияния на церебральный кровоток интактных животных. Показано, что цереброваскулярная активность конъюгата ГАМК с простагландином E₂ у крыс с ишемией мозга обусловлена его воздействием на ГАМК-ергические механизмы регуляции тонуса сосудов мозга, так как она устраняется блокатором ГАМК_A-рецепторов бикакуллином. Вместе с тем простагландин E₂ в одинаковой степени усиливает кровоснабжение мозга крыс интактных и в условиях глобальной преходящей ишемии, а блокатор ГАМК_A-рецепторов бикакуллин не влияет на цереброваскулярную активность простагландина E₂.

Ключевые слова: конъюгат ГАМК с простагландином E₂, простагландин E₂, мозговое кровообращение, глобальная преходящая ишемия мозга, бикакуллин

ВВЕДЕНИЕ

Простагландины оказывают выраженное влияние на кровоснабжение различных органов: регулируют перфузионное давление, парциальное давление кислорода и диоксида углерода, участвуют в развитии компенсаторных реакций при асфиксии, ишемии, гиперкапнии и гипотензии, участвуют в агрегации тромбоцитов [4, 11]. В настоящее время подробно изучены молекулярные и клеточные эффекты простагландина E₂ (ПГЕ₂). ПГЕ₂ обладает в основном сосудорасширяющим эффектом, является медиатором воспаления и участвует в образовании ряда цитокинов, таких, как фактор некроза опухоли и интерлейкин 6 [6, 9, 10]. Данные литературы свидетельствуют о нейротекторных свойствах ПГЕ₂, обусловленных его влиянием на EР₂-рецепторы [7]. Показано, что ПГЕ₂, воздействуя на EР₂-рецепторы, может снижать нейротоксичность посредством ц-АМФ-зависимого механизма [8].

Ранее мы установили, что по цереброваскулярной активности конъюгат ГАМК с докозагексаеноилдофамином существенно отличается от докозагексаеноилдофамина. В частности, конъюгат ГАМК с докозагексаеноилдофамином вызывает увеличение локального мозгового кровотока в условиях сосудистой патологии мозга и не влияет на кровоснабжение мозга интактных животных, тогда как докозагексаеноилдофамин такой избирательностью действия не обладает [2, 3]. Конъюгат ГАМК с арахидоновой кислотой увеличивает локальный мозговой кровоток только у крыс, перенесших глобальную преходящую ишемию головного мозга, не оказывая влияния на кровоснабжение мозга интактных животных [1].

В соответствии с вышеизложенным представлялось важным сопоставить данные по влиянию на кровоснабжение мозга конъюгата ГАМК с простагландином E₂, синтезированного в лаборатории оксипиринов Института биоорганической химии имени М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН (чистота не менее 95 % по данным ВЭЖХ), и простагландина E₂ и выявить сходство и различие между эффектами указанных соединений.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 66 наркотизированных (уретан 1,2 г/кг, внутривентриально) нелинейных крысах-самцах массой 180 – 400 г.

Состояние мозгового кровообращения у животных оценивали с помощью методики лазерной доплеровской флоуметрии. Для регистрации локального мозгового кровотока в теменной области коры головного мозга крыс использовали флоуметр ALF-21 (“Transonic System Inc.”, США). Игольчатый датчик флоуметра диаметром 0,8 мм устанавливали на теменной области коры большого мозга крысы с помощью микроманипулятора и коромысла. Одновременно регистрировали изменения артериального давления через предварительно введенный в бедренную артерию полиэтиленовый катетер. На основании данных датчиков кровотока и давления в реальном времени рассчитывали сопротивление сосудов. Запись показателей кровотока, артериального давления и сопротивления сосудов производили на полиграфе фирмы ВЮРАК (США). Исследуемые вещества вводили через полиэтиленовый катетер в бедренную вену животных.

Глобальную преходящую ишемию у крыс вызывали 10-минутной окклюзией обеих общих сонных артерий с одновременным снижением артериального давления до 40 – 50 мм рт. ст. методом кровопускания с последующей реинфузией.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Stastitika 8,0 (Statistika

¹ ФГБУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

² ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, 117871, ГСП-7, Москва, В-437, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.

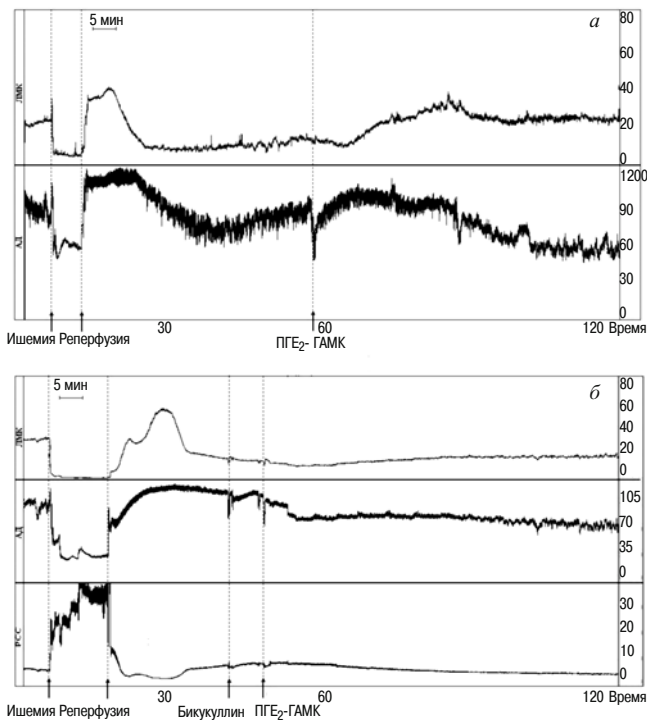


Рис. 1. Влияние конъюгата ГАМК с простагландином E₂ (ПГЕ₂-ГАМК, 0,1 мг/кг) на локальный мозговой кровоток (ЛМК, у.е.), артериальное давление (АД, мм рт. ст.) и расчетное сопротивление сосудов (РСС) у крыс после глобальной переходящей ишемии (а) и на фоне бикикуллина в дозе 0,5 мг/кг (б).

Инс., США). Нормальность распределения выборки определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, для дальнейшей обработки данных использовали непараметрический двухвыборочный знаково-ранговый критерий Вилкоксона. Результаты рассматривали как значимые при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние конъюгата ГАМК с простагландином E₂ на мозговое кровообращение

Конъюгат ГАМК с простагландином E₂ у интактных животных в дозе 0,1 мг/кг при внутривенном введении не

Таблица 1. Влияние конъюгата ГАМК с простагландином E₂ (ПГЕ₂-ГАМК, 0,1 мг/кг) на локальный мозговой кровоток (ЛМК в у.е. и % к исходному уровню) у крыс после глобальной переходящей ишемии

№ опыта	ЛМК Фон1	Ишемия		Фон 2		10 мин после ПГЕ ₂ -ГАМК		20 мин после ПГЕ ₂ -ГАМК		40 мин после ПГЕ ₂ -ГАМК		60 мин после ПГЕ ₂ -ГАМК		70 мин после ПГЕ ₂ -ГАМК		90 мин после ПГЕ ₂ -ГАМК	
		у.е.	%	у.е.	% к ф1	у.е.	% к ф2	у.е.	% к ф2	у.е.	% к ф2	у.е.	% к ф2	у.е.	% к ф2	у.е.	% к ф2
1	25	3	-88,0	17	-32,0	20	17,6	25	47,1	46	170,6	47	176,5	50	194,1	50	194,1
2	34	8	-76,5	29	-14,7	35	20,7	40	37,9	37	27,6	39	34,5	42	44,8	44	51,7
3	21	4	-81,0	14	-33,3	17	21,4	19	35,7	22	57,1	26	85,7	28	100,0	19	35,7
4	25	3	-88,0	14	-44,0	16	14,3	15	7,1	16	14,3	17	21,4	19	35,7	20	42,9
5	25	3	-88,0	14	-44,0	16	14,3	17	21,4	22	57,1	22	57,1	24	71,4	17	21,4
6	30	3	-90,0	12	-60,0	13	8,3	16	33,3	25	108,3	29	141,7	30	150,0	30	150,0
7	35	4	-88,6	20	-42,9	24	20,0	26	30,0	29	45,0	40	100,0	50	150,0	40	100,0
8	24	6	-75,0	19	-20,8	25	31,6	29	52,6	42	121,1	47	147,4	42	121,1	40	110,5
Мед.	25,0	3,5*	-88,0	15,5*	-38,1	18,5 [#]	18,8	22,0 [#]	34,5	27,0 [#]	57,1	34,0 [#]	92,9	36,0 [#]	110,6	35,0 [#]	75,9

Примечание: Мед. — медиана, Фон 1 — значение ЛМК до ишемии, Фон 2 — значение ЛМК через 30 мин после реперфузии, * — $p \leq 0,05$ — к фону 1, [#] — $p \leq 0,05$ — к фону 2.

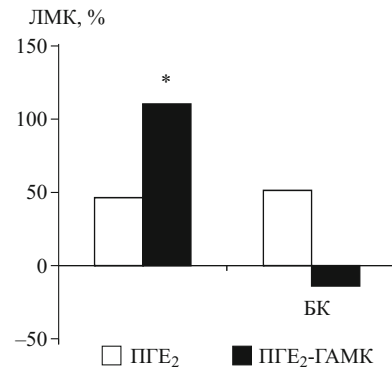


Рис. 2. Влияние конъюгата ГАМК с простагландином E₂ (ПГЕ₂-ГАМК) и простагландина E₂ (ПГЕ₂) на локальный мозговой кровоток (ЛМК, %) в условиях глобальной переходящей ишемии и в условиях блокады ГАМК-рецепторов бикикуллином (БК), * — $p \leq 0,05$.

вызывает изменений локального мозгового кровотока. В указанной дозе конъюгат ГАМК с простагландином E₂ не вызывает однонаправленных изменений артериального давления ($n = 10$).

Следующая серия опытов была посвящена изучению состояния микроциркуляции головного мозга крыс при глобальной переходящей ишемии ($n = 8$). Проведенные опыты позволили установить, что вещество сразу же после введения вызывало увеличение локального мозгового кровотока, которое к 70-й минуте достигает максимальных значений и составляет в среднем 110,6 % (табл. 1, рис. 1а, 2). Этот эффект обусловлен непосредственным влиянием конъюгата ГАМК с простагландином E₂ на тонус сосудов мозга, так как уровень артериального давления под его влиянием в большинстве опытов снижается в среднем на 15 % (рис. 1а).

В соответствии с полученными данными о различии в действии конъюгата ГАМК с простагландином E₂ на мозговое кровообращение крыс интактных и перенесших глобальную переходящую ишемию, представляло интерес провести анализ механизма его действия на кровоснабжение ишемизированного мозга. Подобное различие ха-

рактерно для веществ с ГАМК-ергическим компонентом в механизме их действия [1 – 3]. Поэтому была проведена специальная серия опытов, в которой цереброваскулярные свойства конъюгата ГАМК с простагландином E₂ исследовали в условиях блокады ГАМК_A-рецептора бикикуллином ($n = 10$). На фоне действия бикикуллина цереброваскулярные свойства конъюгата ГАМК с простагландином E₂ либо не проявляются, либо выражены в значительно меньшей степени (рис. 1б). Полученные данные позволяют утверждать, что влияние конъюгата ГАМК с простагландином E₂ на мозговое кровообращение в условиях ишемии мозга реализуется через ГАМК-ергические механизмы сосудов мозга.

Влияние простагландина E₂ на мозговое кровообращение

Простагландин E₂ (0,1 мг/кг внутривенно) не влияет на локальный кровоток в теменной области коры головного мозга интактных крыс ($n = 10$). Опыты с использованием простагландина E₂ в дозе 0,2 мг/кг показали, что

исследуемое соединение вызывает увеличение мозгового кровотока, которое достигает максимального значения к 70-й минуте и составляет в среднем 30,6 %. Артериальное давление после введения соединения на первых минутах немного повышалось, а с 20-й минуты и до конца эксперимента (90 мин) постепенно снижалось ($n = 10$).

Далее было изучено влияние простагландина E₂ на локальный мозговой кровоток крыс в условиях глобальной преходящей ишемии. Эксперименты показали, что в этой серии опытов простагландин E₂ при внутривенном введении в дозе 0,2 мг/кг сразу же после введения вызывал увеличение локального мозгового кровотока в среднем на 46,6 % (60-я минута) (табл. 2, рис. 2). Затем кровоток немного снижался, но оставался повышенным до конца эксперимента ($n = 8$). Уровень артериального давления под влиянием простагландина E₂ сначала немного повышался, а затем снизился к концу эксперимента в среднем на 13,6 % от фонового значения.

В соответствии с полученными данными о ГАМК-ергическом механизме цереброваскулярного действия

Таблица 2. Влияние простагландина E₂ (ПГЕ₂, 0,2 мг/кг) на локальный мозговой кровоток (ЛМК в у.е. и % к исходному уровню) у крыс после глобальной преходящей ишемии

№ опыта	ЛМК Фон 1	Ишемия		Фон 2		10 мин после ПГЕ ₂		20 мин после ПГЕ ₂		40 мин после ПГЕ ₂		60 мин после ПГЕ ₂		70 мин после ПГЕ ₂		90 мин после ПГЕ ₂	
		у.е.	% к ф1	у.е.	% к ф1	у.е.	% к ф2	у.е.	% к ф2	у.е.	% к ф2	у.е.	% к ф2	у.е.	% к ф2	у.е.	% к ф2
1	47	13	-72,3	38	-19,1	42	10,5	46	21,1	52	36,8	57	50,0	58	52,6	52	36,8
2	33	20	-39,4	28	-15,2	31	10,7	35	25,0	38	35,7	37	32,1	36	28,6	29	3,6
3	29	3	-89,7	18	-37,9	27	50,0	30	66,7	35	94,4	35	94,4	34	88,9	30	66,7
4	25	8	-68,0	20	-20,0	32	60,0	34	70,0	35	75,0	30	50,0	34	70,0	28	40,0
5	46	4	-91,3	37	-19,6	38	2,7	42	13,5	55	48,6	53	43,2	49	32,4	45	21,6
6	42	7	-83,3	34	-19,0	31	-8,8	35	2,9	40	17,6	45	32,4	46	35,3	40	17,6
7	30	2	-93,3	16	-46,7	19	18,8	20	25,0	21	31,3	21	31,3	20	25,0	19	18,8
8	38	5	-86,8	24	-36,8	26	8,3	30	25,0	35	45,8	38	58,3	35	45,8	31	29,2
Мед.	35,5	6,0*	-85,1	26,0*	-19,8	31,0 [#]	10,6	34,5 [#]	25,0	36,5 [#]	41,3	37,5 [#]	46,6	35,5 [#]	40,6	30,5 [#]	25,4

Примечание: Мед. — медиана, Фон1 — значение ЛМК до ишемии, Фон2 — значение ЛМК через 30 мин после реперфузии, * — $p \leq 0,05$ — к фону 1, [#] — $p \leq 0,05$ — к фону 2.

Таблица 3. Влияние простагландина E₂ (ПГЕ₂, 0,2 мг/кг) на фоне бикикуллина (БК, 0,5 мг/кг) на локальный мозговой кровоток (ЛМК в у.е. и % к исходному уровню) крыс после глобальной преходящей ишемии

№ опыта	ЛМК Фон1	Ишемия		Фон 2		Фон 3 после БК		20 мин после ПГЕ ₂		30 мин после ПГЕ ₂		40 мин после ПГЕ ₂		50 мин после ПГЕ ₂		60 мин после ПГЕ ₂	
		у.е.	%	у.е.	%	у.е.	%	у.е.	% к ф3	у.е.	% к ф3	у.е.	% к ф3	у.е.	% к ф3	у.е.	% к ф3
1	39	3	-92,3	28	-28,2	22	-21,4	33	50,0	34	54,5	31	40,9	28	27,3	24	9,1
2	26	2	-92,3	19	-26,9	23	21,1	46	100,0	50	117,4	48	108,7	46	100,0	42	82,6
3	19	3	-84,2	15	-21,1	16	6,7	20	25,0	22	37,5	23	43,8	22	37,5	22	37,5
4	30	5	-83,3	26	-13,3	35	34,6	46	31,4	50	42,9	50	42,9	48	37,1	47	34,3
5	28	2	-92,9	15	-46,4	17	13,3	18	5,9	20	17,6	25	47,1	27	58,8	27	58,8
6	17	4	-76,5	14	-17,6	19	35,7	39	105,3	42	121,1	43	126,3	42	121,1	40	110,5
7	27	4	-85,2	19	-29,6	19	0,0	25	31,6	28	47,4	29	52,6	29	52,6	28	47,4
8	23	4	-82,6	13	-43,5	14	7,7	22	57,1	27	92,9	26	85,7	20	42,9	19	35,7
9	23	4	-82,6	16	-30,4	20	25,0	25	25,0	25	25,0	25	25,0	25	25,0	23	15,0
10	40	4	-90,0	21	-47,5	22	4,8	30	36,4	34	54,5	35	59,1	37	68,2	37	68,2
Мед.	26,5	4,0*	-84,7	17,5 [#]	-28,9	19,5	10,5	27,5 ^{&}	34,0	31,0 ^{&}	51,0	30,0 ^{&}	50,0	28,5 ^{&}	47,8	27,5 ^{&}	42,5

Примечание: Мед. — медиана, Фон 1 — значение ЛМК до ишемии, Фон 2 — значение ЛМК через 30 мин после реперфузии, Фон 3 — значение ЛМК через 30 минут после бикикуллина, * — $p \leq 0,05$ — к фону 1, [#] — $p \leq 0,05$ — к фону 2, [&] — $p \leq 0,05$ — к фону.

конъюгата ГАМК с простагландином E_2 было изучено влияние простагландина E_2 на локальный мозговой кровоток крыс в условиях глобальной преходящей ишемии мозга на фоне блокады ГАМК_A-рецепторов бикукуллином ($n = 10$). Результаты опытов показали, что простагландин E_2 в этих условиях через 10 мин после введения вызывает увеличение мозгового кровотока, которое к 30 минуте составляет в среднем 51,0 % (табл. 3, рис. 2). В этих экспериментах простагландин E_2 оказывал неодинаковое влияние на уровень артериального давления: в 3-х опытах уровень артериального давления снижался на 10 %, а в остальных опытах повышался в среднем на 19 %. Необходимо отметить, что в опытах, в которых исследовалось влияние простагландина E_2 на мозговое кровообращение на фоне глобальной преходящей ишемии, мозговой кровоток возрастал на 46,6 %. Следовательно, мы не выявили разницы в цереброваскулярном эффекте простагландина E_2 в контрольных опытах и на фоне блокады ГАМК_A-рецепторов. Можно полагать, что цереброваскулярный эффект простагландина E_2 в условиях ишемии мозга реализуется через свои рецепторы.

Таким образом, сравнительное изучение мозгового кровообращения под влиянием конъюгата ГАМК с простагландином E_2 и простагландина E_2 позволило установить, что если у интактных крыс простагландин E_2 усиливает кровоснабжение мозга, то конъюгат ГАМК с простагландином E_2 таким действием не обладает, т.е. выявлено различие в цереброваскулярных эффектах исследованных соединений у интактных животных. Цереброваскулярная активность простагландина E_2 в одинаковой степени проявляется как у интактных крыс, так и у животных в условиях ишемического поражения мозга. Конъюгат ГАМК с простагландином E_2 вызывает значительное усиление кровотока ишемизированного мозга, которое на 70 – 90 минутах статистически значимо превосходит эффект простагландина E_2 .

Анализ цереброваскулярной активности исследованных соединений показал, что, если действие конъюгата ГАМК с простагландином E_2 связано с участием ГАМК-ергических механизмов регуляции тонуса сосудов мозга, то эффект простагландина E_2 реализуется, по-видимому, посредством воздействия его на простагланди-

новые рецепторы, расположенные в сосудах мозга (рис. 2).

ВЫВОДЫ

1. Конъюгат ГАМК с простагландином E_2 увеличивает кровоснабжение мозга крыс, перенесших глобальную преходящую ишемию, не оказывая влияния на церебральный кровоток интактных животных.
2. Цереброваскулярная активность конъюгата ГАМК с простагландином E_2 у крыс с ишемией мозга обусловлена его воздействием на ГАМК-ергические механизмы регуляции тонуса сосудов мозга, так как она устраняется блокатором ГАМК_A-рецепторов бикукуллином.
3. Простагландин E_2 в одинаковой степени усиливает кровоснабжение мозга интактных крыс и в условиях глобальной преходящей ишемии. Этот эффект сохраняется на фоне действия бикукуллина.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. В. Гнездилова, Т. С. Ганьшина, Д. В. Масленников и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **74**(6), 28 – 31 (2011).
2. И. Н. Курдюмов, Т. С. Ганьшина, Н. Р. Мирзоян и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **71**(4), 26 – 29 (2008).
3. Н. А. Хайлов, *Автореферат дис. канд. мед. наук*, Москва (2012).
4. C. L. Bos, D. J. Richel, T. Ritsema, M. P., *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **36**, 1187 – 1205 (2004).
5. Chemtob, D. Y. Li, D. Abran, P. Hardy, K. Peri, D. R. Varma, *Acta Paediatr.*, **85**, 517 – 524 (1996).
6. R. M. Hinson, J. A. Williams, E. Shacter, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **93**(10), 4885 – 4890 (1996).
7. D. Liu, L. Wu, R. Breyer, M. P. Mattson, K. Andreasson, *Ann. Neurol.*, **57**(5), 758 – 761 (2005).
8. L. McCullough, L. Wu, N. Haughey, et al., *The Journal of Neuroscience*, **24**(1), 257 – 268 (2004).
9. H. Renz, J. H. Gong, A. Schmidt, et al., *Journal of Immunology*, **141**(7), 2388 – 2393 (1988).
10. J. Williams, *British Journal of Pharmacology*, **65**(3), 517 – 524 (1979).
11. H. D. Wright, D. Abran, M. Bhattacharya, X. Hou, *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp Physiol.*, **281**, 1343 – 1360 (2001).

Поступила 18.04.13

CEREBROVASCULAR EFFECTS OF GABA-PROSTAGLANDIN E_2 CONJUGATE IN COMPARISON WITH PROSTAGLANDIN E_2

A. V. Gorbunova¹, T. S. Gan'shina¹, N. M. Gretskeya², V. V. Bezuglov², and R. S. Mirzoyan¹

¹ Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiiskaya ul. 8, Moscow, 125315, Russia

² Shemyakin – Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow V-437, GSP-7, 117997, Russia

Experiments have shown that GABA conjugate with prostaglandin E_2 enhances cerebral blood flow in rats after global transient ischemia, while not affecting the cerebral hemoperfusion in intact animals. It is established that cerebrovascular activity of the GABA conjugate with prostaglandin E_2 under conditions of cerebral ischemia is based on GABAergic mechanisms of vascular tone regulation, since it is removed by GABA_A-receptor blocker bicuculline. At the same time, cerebral blood flow of intact rats and rats after global transient ischemia of brain is equally enhanced by prostaglandin E_2 alone. This effect is not neutralized by bicuculline.

Keywords: GABA conjugate with prostaglandin E_2 ; prostaglandin E_2 ; cerebral blood flow; global transient cerebral ischemia; bicuculline