

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

ТРИПЕПТОИДНЫЙ АНАЛОГ НЕЙРОТЕНЗИНА ДИЛЕПТ СОЧЕТАЕТ НЕЙРОЛЕПТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ С ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ МНЕМОТРОПНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Р. У. Островская, М. В. Ретюнская, Л. С. Гузевых, Т. А. Гудашева,
Т. А. Воронина, С. Б. Середенин¹

Исследовали влияние нового нейролептика дипептидной структуры дилепта (N-капроил-L-пролил-L-тирозина метилового эфира, ГЗР-123) на когнитивные функции в тесте условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ). Установлено, что дилепт улучшает выработку и воспроизведение УРПИ в условиях слабого подкрепляющего режима обучения, а также предотвращает амнестическое действие электрошока. Нейромедиаторный анализ этих эффектов выявил вовлечение в механизм антиамнестического действия дилепта усиление центральной глутамат- и холинергической передачи. Сочетание у дилепта антипсихотической активности со способностью облегчать обучаемость в тесте УРПИ и оказывать антиамнестическое действие позволяет прогнозировать эффективность дилепта в отношении негативной симптоматики шизофрении. Наличие антипсихотической активности и положительного мнемотропного действия предполагает также перспективность использования дилепта для купирования психотических расстройств при болезни Альцгеймера.

Ключевые слова: амнезия, пролил-тирозин дипептид, мнестические функции, нейролептики, нейротензин, шизофрения

ВВЕДЕНИЕ

Согласно дихотомической концепции Т. Стов, течение шизофрении может характеризоваться преобладанием позитивной (бред, галлюцинации) либо негативной (эмоциональная уплощенность, неспособность к абстрактному мышлению и принятию решений, нарушения внимания, памяти) симптоматики. Хотя роль когнитивного дефицита в течении шизофрении была впервые подчеркнута более века назад в работах Krepelin, определившего шизофрению как “раннее слабоумие”, внимание исследователей в дальнейшем было сосредоточено в основном на продуктивных симптомах. Это было связано не только с большей медико-социальной угрозой продуктивных проявлений, но и с тем, что классические нейролептики, открытие которых положило начало эре психофармакологии, оказались эффективными только в отношении позитивной симптоматики. Что касается негативных симптомов, в первую очередь когнитивного дефицита, типичные нейролептики его не купировали, а, напротив, усугубляли; к тому же для их действия характерно наличие выраженной экстрапирамидной симптоматики. Понятие о когнитивном дефиците как о мишени терапии шизофрении начало формироваться лишь недавно [8, 16]. При этом возможности коррекции дефицитарной симптоматики связывают с атипичными нейро-

лептиками последней генерации, обладающими наряду с антидофаминовым действием также серотонино-негативным эффектом. Однако в отношении некоторых когнитивных функций, например, рабочей памяти и внимания даже такие препараты “золотого стандарта”, как клозапин и оланзепин не являются достаточно эффективными [13]. Указанные недостатки известных нейролептиков определяют продолжающиеся поиски эффективных препаратов, лишенных побочных эффектов.

Имеется ряд экспериментальных и клинических данных, позволяющих рассматривать нейротензин (НТ) в качестве эндогенного нейролептика [14]; степень гипофункции этого тридекапептида коррелирует с тяжестью симптомов шизофрении, в том числе когнитивного дефицита [7]. Тот факт, что сам НТ имеет низкую энзиматическую устойчивость и проявляет нейротропную активность только при непосредственном введении в мозг, побудил к активному поиску его агонистов, эффективных при системном введении. Этот поиск, ведущийся на основании модификации структуры активной части тридекапептида, НТ₈₋₁₃, привел к созданию ряда гексапептидов [17]. Оригинальный подход к поиску активных олигопептидов, развиваемый в Институте фармакологии РАМН, состоит в создании малых молекул — ди- и трипептидов, отличающихся большей биологической стабильностью, и эффективных в условиях системного введения [3, 6]. За основу моделирования активных НТ-подобных

¹ ГУ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.

нейролептиков был взят дипептид пролил-тирозин в связи с тем, что эта последовательность составляет “головку” β -поворота НТ₈₋₁₃ и имеет структурное сходство с атипичным нейролептиком сульпиридом, рассматриваемым Т. А. Гудашевой как гипотетический прототип лиганда НТ-рецепторов [10]. Из серии N-ацил-пролил-тирозинов для более подробного изучения был отобран N-капроил-L-пролил-L-тирозин метиловый эфир (ГЗР-123, дилепт), продемонстрировавший нейролептическую активность в диапазоне доз 0,4 – 4 мг/кг при внутрибрюшинном введении [4, 5] и 6 – 16 мг/кг при введении внутрь [1]. Этот трипептоидный аналог нейротензина не уступает по выраженности антипсихотического действия упомянутым гексапептидным аналогам НТ и существенно превышает непептидный прототип сульпирид. Подобно другим нейролептикам и нейротензину он проявляет гипотермическое действие, а также потенцирует эффект барбитуратов. При этом даже в дозах, превосходящих нейролептические в 250 – 500 раз, он не проявляет каталептогенного и седативного эффектов, что позволяет прогнозировать отсутствие экстрапирамидной симптоматики. Исходя из представлений о важнейшей роли когнитивной патологии в клинической картине шизофрении, изучение его влияния на мнестические функции представляет специальный интерес. Целью данной работы явилось изучение влияния дилепта на выработку и воспроизведение условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) и нейромедиаторный анализ этого эффекта.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на самцах беспородных белых крыс массой 180 – 220 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении и свободном доступе к пище и воде. Дилепт применяли в дозе 0,8 мг/кг, проявившей в предыдущих исследованиях максимальную эффективность по тестам для выявления антипсихотической активности [4, 5]. Дилепт вводили внутрибрюшинно (в/б) в виде свежеприготовленной суспензии с твин 80.

Влияние дилепта на обучаемость в тесте УРПИ изучали с использованием прибора Laffaete Instr. (США). Крысу сажали на ярко освещенную платформу (250 × 70 мм) хвостом к отверстию (60 × 60 мм), ведущему в темную камеру (400 × 400 × 400 мм) с электродным полом. Вследствие норкового рефлекса после нахождения входа в темный отсек крыса переходила в него. Регистрировали латентный период первого захода в затемненное отделение и суммарное время пребывания в нем в течение 3 мин, по истечении которых отверстие закрывали и подавали на пол камеры электрический ток. В зависимости от задачи эксперимента использовали два типа обучающих стимулов: для моделирования состояния “недоученности” применяли режим более слабой стимуляции (2 – 3 удара током с интервалом 2 с, силой 0,45 мА, длительностью 1 с каждый); в экспериментах с амнестическими воздействиями наносили 5 – 6 последовательных импульсов. Амнезию моделировали либо нанесением крысе непосредственно после обучения транскорнеального электрошока (ЭШ), 70 вольт, 300 мс, либо предварительным введением одного из следующих амнестических агентов: неконкурентного блокатора NMDA-рецепторов кетамина (30 мг/кг, внутрибрюшинно за 10 мин до обучения), блокатора центральных холинорецепторов мускаринового типа скополамина (0,5 мг/кг, под кожу за 30 мин до обучения), бло-

катора холинорецепторов никотинового типа мекамиламина (2 мг/кг, внутрибрюшинно за 20 мин до обучения), либо бензодиазепинового агониста ГАМК_A рецепторов диазепам (5 мг/кг, под кожу за 30 мин до обучения). При тестировании сохранности УРПИ, проводимом через 24 ч, регистрировали латентность 1-го захода в темное отделение и длительность пребывания в нем.

Для оценки влияния дилепта на исходно сниженную обучаемость крыс разделяли случайным образом на 2 группы: контрольную, в которой крысам за 15 мин до обучения внутрибрюшинно вводили 0,9 % раствор NaCl, и опытную, животным которой предварительно вводили дилепт в дозе 0,8 мг/кг. Для анализа антиамнестической активности дилепта животные были разделены на 3 группы: пассивного контроля, в которой крысам перед обучением вводили 0,9 % раствор NaCl, активного контроля, животным которой до обучения вводили 0,9 % раствор NaCl с последующим нанесением транскорнеального ЭШ или один из перечисленных выше амнестических агентов, опытную группу, состоящую из животных, подвергавшихся одному из амнестических воздействий в сочетании с дилептом, вводившимся за 15 мин (за 25 мин в случае амнезии, вызываемой кетамином) до обучения. При статистической обработке данных достоверность различий между группами по показателю латентного периода захода в темный отсек при тестировании определяли с помощью непараметрического критерия У Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При режиме слабого подкрепляющего стимула латентное время захода в темный отсек через 24 ч после обучения в контрольной группе составляло $92,6 \pm 14,5$ с. В группе крыс, которым вводили дилепт в дозе 0,8 мг/кг, этот показатель увеличивался до $138,4 \pm 17,7$ с ($p < 0,05$), что свидетельствует об улучшении выработки УРПИ в условиях его исходного дефицита. Дилепт проявил также отчетливый антиамнестический эффект на модели постконвульсионной амнезии. Так, если в контрольной (интактной) группе латентный период захода в темный отсек при тестировании составил $115,6 \pm 13,4$ с, то в группе животных, подвергшихся ЭШ, его величина составила лишь $6,5 \pm 1,5$ с. В группе опытных животных, которым перед ЭШ вводили дилепт, латентный период захода составил $57,3 \pm 13,4$ с, т.е. был достоверно выше такового в группе активного контроля, что указывает на наличие у дилепта выраженного антиамнестического эффекта.

На следующем этапе исследования изучали механизмы выявленного позитивного влияния дилепта на показатели обучаемости. Известно, что основным фактором, определяющими уровень пластичности мозга, является соотношение активности двух основных возбуждающих медиаторных систем — глутаматергической и холинергической, с одной стороны, и тормозной, ГАМК-ергической системы, с другой. В связи с этим эффект дилепта исследовали в условиях амнезии, вызванной воздействием на каждую из этих систем.

Введение кетамина сопровождалось развитием амнезии, что проявлялось выраженным снижением величины латентного периода захода в темный отсек установки. Совместное применение дилепта и кетамина приводило к достоверному увеличению этого показателя.

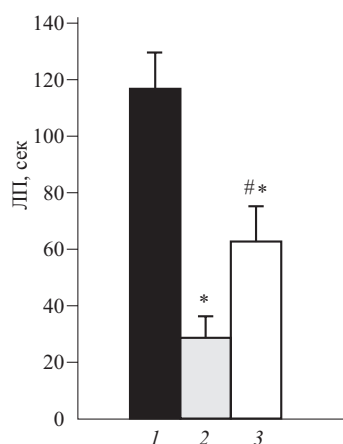


Рис. 1. Влияние дилепта на нарушения обучения в тесте выработки условного рефлекса пассивного избегания, вызванные кетамином.

1 — контроль (0,9 % NaCl); 2 — кетамин 30 мг/кг, внутривенно; 3 — дилепт, 0,8 мг/кг, внутривенно + кетамин 30 мг/кг, внутривенно. Здесь и на рис. 2 различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении: * — с контрольной группой; # — с группой активного контроля, подвергшейся воздействию кетамина (U-тест Вилкоксона — Манна — Уитни). По оси ординат — длительность латентного периода, с.

теля (рис. 1). Антиамнестический эффект дилепта был продемонстрирован также при обеих формах холинергического дефицита: в группе интактных животных латентный период захода в темный отсек при тестировании составлял $69,6 \pm 9,3$ с, у животных, которым предварительно вводили скополамин, он был укорочен до $22,4 \pm 6,8$ с, а при совместном введении дилепта и скополамина его величина увеличилась до $46 \pm 8,5$ с ($p < 0,05$). Дилепт оказывал четкое антиамнестическое действие также и в условиях амнезии, вызванной мекамиламином (рис. 2) При этом он не ослаблял выраженность амнестического эффекта диазепама: в контрольной группе латентность захода в опасный отсек при тестировании составляла $159,25 \pm 17,2$ с, в то время, как диазепам укорачивал ее до $28,36 \pm 7,2$ с. Дилепт, введенный после диазепама, не изменял этого показателя ($29,37 \pm 6,9$ с). Этот факт согласуется с выявленным ранее отсутствием у дилепта способности влиять на выраженность судорожного эффекта блокатора ГАМК_A-рецепторов бикакуллина [5].

В целом полученные данные свидетельствуют о том, что наряду с антипсихотической активностью, выявленной у дилепта ранее, он обладает способностью облегчать обучаемость в тесте УРПИ и проявлять антиамнестическое действие. Наличие у нейролептика положительного мнестического эффекта может рассматриваться как необычная совокупность свойств. Типичные нейролептики обычно отрицательно влияют на мнестические функции. Способность нарушать обучаемость рассматривается даже как один из скрининговых тестов для оценки антипсихотического действия. О положительном влиянии на некоторые когнитивные функции сообщают фармацевтические

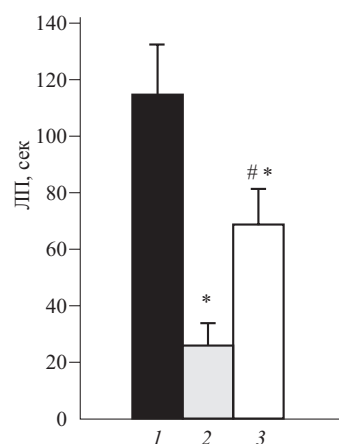


Рис. 2. Влияние дилепта на нарушения обучения в тесте условного рефлекса пассивного избегания, вызванные мекамиламином.

1 — контроль (0,9 % NaCl); 2 — мекамиламин 2 мг/кг, внутривенно; 3 — мекамиламин 2 мг/кг, внутривенно + дилепт 0,8 мг/кг, внутривенно. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

компаний, разработавшие оланзапин, хотя ряд исследователей не подтверждает положительного влияния этого препарата на внимание и память [13].

Известно, что механизм нарушения когнитивных функций при шизофрении является многокомпонентным. Исследования последних лет свидетельствуют о роли гипофункции глутаматергической системы в патогенезе шизофрении. Блокатор NMDA ионных каналов кетамин вызывает изменения поведения, в которых можно найти аналогию с симптомами шизофрении, в частности, выраженные изменения в восприятии, нарушение памяти [11]. Значительный вклад в развитие шизофрении вносит также дефицит холинергической нейротрансмиссии, в первую очередь, никотинергической передачи [9]. Полученные в настоящей работе данные свидетельствуют о том, что дилепт не только не блокирует холинергическую передачу, а, напротив, облегчает ее. В этом состоит его принципиальное отличие от известных нейролептиков, оказывающих разной степени выраженности холиноблокирующий эффект, который является основной причиной их отрицательного влияния на память. Важно подчеркнуть, что дилепт, ослабляя амнестическое действие блокаторов глутаматергической и холинергической передачи, не устранял амнезию, вызванную ГАМК-миметиком диазепамом. Это указывает на специфическую связь антиамнестического действия дилепта с усилением активности глутамат- и холинергической систем, но не с изменением состояния ГАМК-ергической передачи. Именно эти две системы, преимущественно на уровне кортикальных и гиппокампальных структур, играют важную роль в реализации основных когнитивных функций. Более того, имеются данные о способности ацетилхолина усиливать активность NMDA-рецепторов. При этом установлено, что рецепторы мускаринового подтипа реализуют

свой эффект через активацию тирозинкиназного каскада, тогда как никотиновые рецепторы увеличивают высвобождение глутамата на пресинаптическом уровне [12].

Имеются доказательства корреляции выраженности симптомов шизофрении, особенно когнитивного дефицита, со степенью гипофункции нейротензинергической системы [7]. Исследования, выполненные E. Richelson (Mayo Foundation, США) показали, что дилепт обладает способностью связываться с нейротензиновыми рецепторами [2]. Не исключено, что свойства дилепта как системно-активного нейротензино-миметика также вносят определенный вклад в реализацию его положительного мнемотропного эффекта.

Наличие у дилепта указанной совокупности свойств в сочетании с приведенными представлениями о патогенезе когнитивного дефицита при шизофрении позволяет полагать, что препарат проявит эффективность в отношении негативной симптоматики, в первую очередь мнестического дефицита у больных шизофренией. Сочетание антипсихотических свойств с положительным влиянием на когнитивные функции позволяет прогнозировать также эффективность дилепта в отношении психотических расстройств при болезни Альцгеймера. Этот эффект представляет особый интерес в связи с тем, что известные нейролептики в силу своих холинонегативных свойств, будучи применены для купирования психотических проявлений при болезни Альцгеймера, вызывают дополнительное нарушение когнитивных функций [15].

ВЫВОДЫ

1. Новый трипептоидный аналог эндогенного нейролептика нейротензина дилепт способствует улучшению выработки условного рефлекса пассивного избегания в условиях его исходного дефицита, а также снижает выраженность амнестического действия электрошока.

2. Дилепт предотвращает амнестическое действие блокатора NMDA-рецепторов кетамина, но не влияет на нарушения обучения, вызванные ГАМК_A-миметиком диазепамом. Это свидетельствует о вовлечении в механизм действия дилепта активации глутамат-, но не ГАМК-ергической системы.

3. Способность дилепта восстанавливать нарушения когнитивных функций, вызываемые центральными м- и н-холиноблокаторами, предполагает наличие у него холинопозитивных свойств.

4. Совокупность указанных свойств дилепта позволяет прогнозировать его эффективность для лечения негативных симптомов шизофрении и психотических расстройств при болезни Альцгеймера.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 03-04-49049.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. А. Бондаренко, М. В. Ретюнская, Т. А. Гудашева, Р. У. Островская, *Материалы 2-го Съезда Российского научного общества фармакологов*, Москва (2003), с. 73.
2. Т. А. Гудашева, *Автореф. дис. д-ра биол. наук*, Москва (1998).
3. Т. А. Гудашева, Н. И. Зайцева, Н. А. Бондаренко и др., *Хим.-фарм. ж.*, № 11, 10 – 16 (1997).
4. Л. С. Гузевых, Р. У. Островская, Т. А. Гудашева и др., *Экспер. клин. фармакол.*, **65**(1), 3 – 6 (2002).
5. М. В. Ретюнская, Л. С. Гузевых, Н. А. Бондаренко и др., *Бюл. экспер. биол.*, **136**(11), 527 – 531 (2003).
6. С. Б. Середенин, Т. А. Воронина, Т. А. Гудашева, Р. У. Островская и др., Патент РФ 2091390 (1998).
7. N. A. Breslin, R. L. Suddath, G. Bissette, et al., *Schizophrenia Res.*, **12**, 35 – 41 (1994).
8. B. Cornblatt, M. Obuchowski, S. Roberts, et al., *Dev Psychopathol.*, **11**, 487 – 508 (1999).
9. R. Freedman, M. Hall, L. E. Adler, et al., *Biol. Psychiatry*, **38**, 22 – 33 (1995).
10. Т. А. Гудашева, Т. А. Воронина, Р. У. Островская, et al., *J. Med. Chem.*, **41**, 284 – 290 (1998).
11. J. H. Krystal, L. P. Karper, J. P. Seibyl, et al., *Arch. Gen. Psychiatry*, **51**, 199 – 214 (1994).
12. M. J. Marino, S. T. Rouse, A. I. Levey et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **95**, 11465 – 11470 (1998).
13. H. Y. Meltzer and S. R. McGurk, *Schizophr. Bull.*, **25**, 233 – 235 (1999).
14. C. B. Nemeroff, D. E. Hernandez, R. W. Luttinger, et al., *Ann. NY Acad. Sci.*, **400**, 330 – 344 (1989).
15. E. J. Richelson, *Clin. Psychiatry*, **57**(suppl. 11), 4 – 11 (1996).
16. T. Sharma and L. Antonova, *Psychiatr. Clin. North Am.*, **26**(1), 25 – 40 (2003).
17. B. M. Tyler-Mahon, M. Boules, and E. Richelson, *Regul. Peptides*, **93**, 125 – 136 (2000).

Поступила 12.03.04

DILEPT: A TRIPEPTOID NEUROTENSIN ANALOG COMBINING NEUROLEPTIC ACTIVITY WITH POSITIVE MNEMOTROPIC ACTION

R. U. Ostrovskaya, M. V. Retynskaya, L. S. Guzevatykh, T. A. Gudashева, T. A. Voronina, and S. B. Seredenin

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

The effect of N-caproyl-L-prolyl-L-tyrosine methyl ester (GZR-123, Dilept), a new antipsychotic drug with a dipeptide structure, on cognitive functions was studied using the passive avoidance conditioned reflex (PACR) test. It was found that the drug improved both the acquisition and retrieval of PACR under the conditions of undertraining and prevented the amnesic effect of transcorneal electroshock. The neurotransmitter analysis of these effects using the corresponding blockers showed the ability of dilept to facilitate the central glutamatergic (NMDA type) and cholinergic (of both muscarine and nicotine types) neurotransmission. No evidence of the involvement of the GABAergic system was observed. The experimental data on the combination of antipsychotic effect with memory improving activity suggests that dilept may be effective in cases of negative symptoms of schizophrenia and psychotic manifestations in Alzheimer disease.