

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

ГАМК-ЕРГИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНОГО И НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО ЭФФЕКТОВ АФОБАЗОЛА И ПИКАМИЛОНА

И. В. Силкина, Т. С. Ганьшина, С. Б. Середенин, Р. С. Мирзоян¹

В опытах на крысах изучена роль ГАМК-ергического механизма в реализации действия афобазола и пикамилона на мозговое кровообращение. Показано, что цереброваскулярный эффект афобазола значительно снижается на фоне блокаторов ГАМК_A-рецепторов бикикуллина и пикротоксина, что свидетельствует о важном значении системы ГАМК в механизме действия препарата. В экспериментах с пикамилоном на фоне бикикуллина сосудистый эффект препарата не претерпевает существенных изменений. В условиях блокады хлорных каналов ГАМК_A-рецептора пикротоксином наблюдается значительное ослабление влияния пикамилона на мозговой кровоток.

Ключевые слова: афобазол, пикамилон, бикикуллин, пикротоксин, мозговое кровообращение, ГАМК_A-рецепторы

ВВЕДЕНИЕ

В Институте фармакологии РАМН разработан оригинальный препарат афобазол, который в настоящее время проходит клинические испытания в качестве ангиолитического средства [3, 7]. В опытах *ex vivo* показано, что препарат предотвращает снижение ГАМК-бензодиазепиновой рецепции у животных с выраженной реакцией страха и восстанавливает чувствительность мембран к ГАМК и ионам Cl⁻ [8]. Кроме того, имеются экспериментальные данные, указывающие на способность афобазола усиливать мозговое кровообращение [9] и оказывать выраженное нейропротекторное действие в условиях глобальной и локальной ишемии головного мозга [1, 2, 9].

В настоящее время установлена роль ГАМК-ергического компонента в реализации нейропротекторного эффекта фармакологических средств при ишемическом поражении головного мозга [6]. Установлено, что повышение ГАМК-ергической активности понижает нейротоксическое действие глутаматергической системы [10, 11]. Вместе с тем обнаружена способность ГАМК улучшать мозговое кровообращение, за счет понижения тонус сосудов головного мозга [4].

Учитывая изложенное, представляется важным выяснить значение ГАМК-ергического фактора в цереброваскулярном и нейропротекторном эффектах афобазола. В качестве препарата сравнения выбран ГАМК-ергический препарат пикамилон, который применяется в неврологической клинике при лечении больных с цереброваскулярными расстройствами [5].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили на 42 белых беспородных крысах массой 250 – 300 г под общей анестезией (хлоралгидрат 400 мг/кг, внутривенно).

Для регистрации состояния микроциркуляции (локального мозгового кровотока) крыс закрепляли в стереотаксическом аппарате, в теменной кости просверливали отверстие диаметром 1,5 мм до поверхности твердой мозговой оболочки, которая сохранялась интактной. Микроциркуляцию регистрировали с помощью лазерного доплеровского флоуметра ALF-21 фирмы "Transonic Systems Inc." (США). Для этой цели игольчатый датчик флоуметра диаметром 0,8 мм устанавливали на теменной области коры большого мозга с помощью микроманипулятора и коромысла.

Для регистрации артериального давления и введения препарата бедренные вену и артерию отпрепарировали, вводили в них силиконовые катетеры. Регистрацию артериального давления проводили электроманометром "BPR-01 Experimentia" (Венгрия).

Афобазол (5)мг/кг, пикамилон (10 мг/кг), блокаторы ГАМК_A-рецепторов бикикуллин и пикротоксин в дозах 0,5 мг/кг вводили внутривенно. Данные обрабатывали статистически с помощью *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В первой серии опытов изучено влияние бикикуллина на цереброваскулярный эффект афобазола (табл. 1, рис. 1). Афобазол в дозе 5 мг/кг вызывает увеличение локального мозгового кровотока у интактных крыс ($n = 9$) в среднем на $20,4 \pm 2,9$ %. Через 60 мин после афобазола вводили бикикуллин, затем через 30 мин афобазол повторно. На фоне блокатора ГАМК-рецепторов препарат вызывал увеличение мозгового кровотока в среднем на $11,4 \pm 2,7$ % (разница статистически значима при $p < 0,05$). У одного животного после введения афобазола не произошло изменений мозгового кровотока и артериального давления, что свидетельствует о полной блокаде действия препарата бикикулином. Реакция артериального давления на афобазол была неоднозначной: у 6 из 9 животных

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

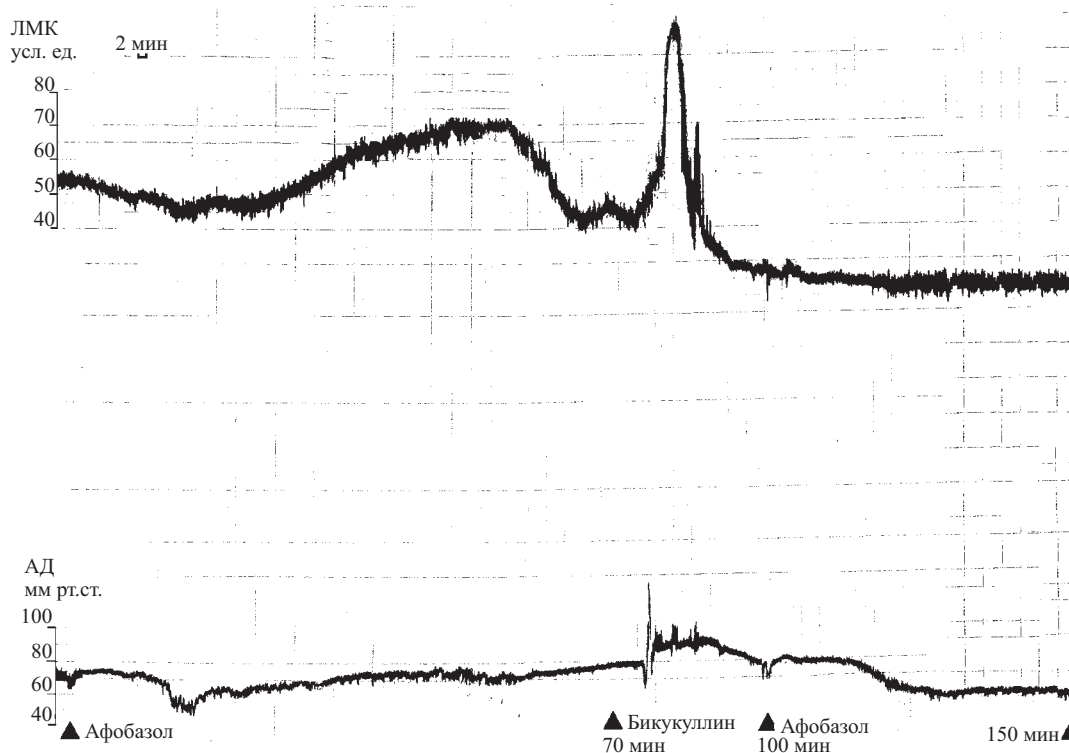


Рис. 1. Влияние бикукуллина (0,5 мг/кг внутривенно) на цереброваскулярный эффект афобазола (5 мг/кг внутривенно).

Здесь и на рис. 2 и 3 сверху вниз: отметка времени — 2 мин, локальный мозговой кровоток (ЛМК), усл. ед., артериальное давление (АД) в бедренной артерии, мм рт. ст., отметки введения веществ.

наблюдалось увеличение давления на 25 %, у остальных — снижение на 22 %. На фоне действия бикукуллина афобазол у всех крыс вызывал снижение артериального давления в среднем на 22 %.

В следующей серии опытов было исследовано влияние бикукуллина на действие пикамилона (табл. 2). У интактных животных ($n = 15$) пикамилон вызывал увеличение локального мозгового кровотока на $23,6 \pm 7,3$ %. На фоне блокатора ГАМК-рецепторов пикамилон вызывал увеличение мозгового кровотока в среднем на $15,9 \pm 2,7$ %. Полученные данные не выявили статистически значимых различий между влиянием пикамилона на кровоснабжение мозга интактных

крыс и на фоне блокады ГАМК-рецепторов бикукуллином. Отмечается лишь тенденция к ослаблению цереброваскулярного эффекта пикамилона в этих условиях. Под влиянием пикамилона в большинстве опытов ($n = 11$) у интактных животных наблюдается снижение артериального давления в среднем на 16 %. В трех опытах пикамилон не вызвал изменений артериального давления, в одном — повысил на 5 %. На фоне действия бикукуллина не наблюдалось значимого изменения реакции артериального давления на препарат: у 12 крыс после введения пикамилона артериальное давление понизилось на 23 %, у 3 крыс — не изменилось.

Таблица 1. Влияние афобазола на микроциркуляцию (МК, в усл. ед.) в коре большого мозга интактных крыс и в условиях блокады ГАМК_A-рецепторов бикукуллином

№ опыта	МК		Изменение МК	МК, после		Изменение МК после афобазола на фоне бикукуллина
	контроль	после афобазола		бикукуллина	афобазола на фоне бикукуллина	
1	46	54	8	33	37	4
2	53	65	12	30	39	9
3	91	101	10	42	48	6
4	67	89	22	51	57	6
5	22	26	4	22	25	3
6	30	35	5	30	33	3
7	56	77	21	29	31	2
8	38	42	4	28	28	0
9	41	49	8	28	30	2
	$49,3 \pm 6,9$	$59,8 \pm 8,4$	$10,4 \pm 2,3$	$32,6 \pm 2,9$	$36,4 \pm 3,4$	$3,8 \pm 0,9$

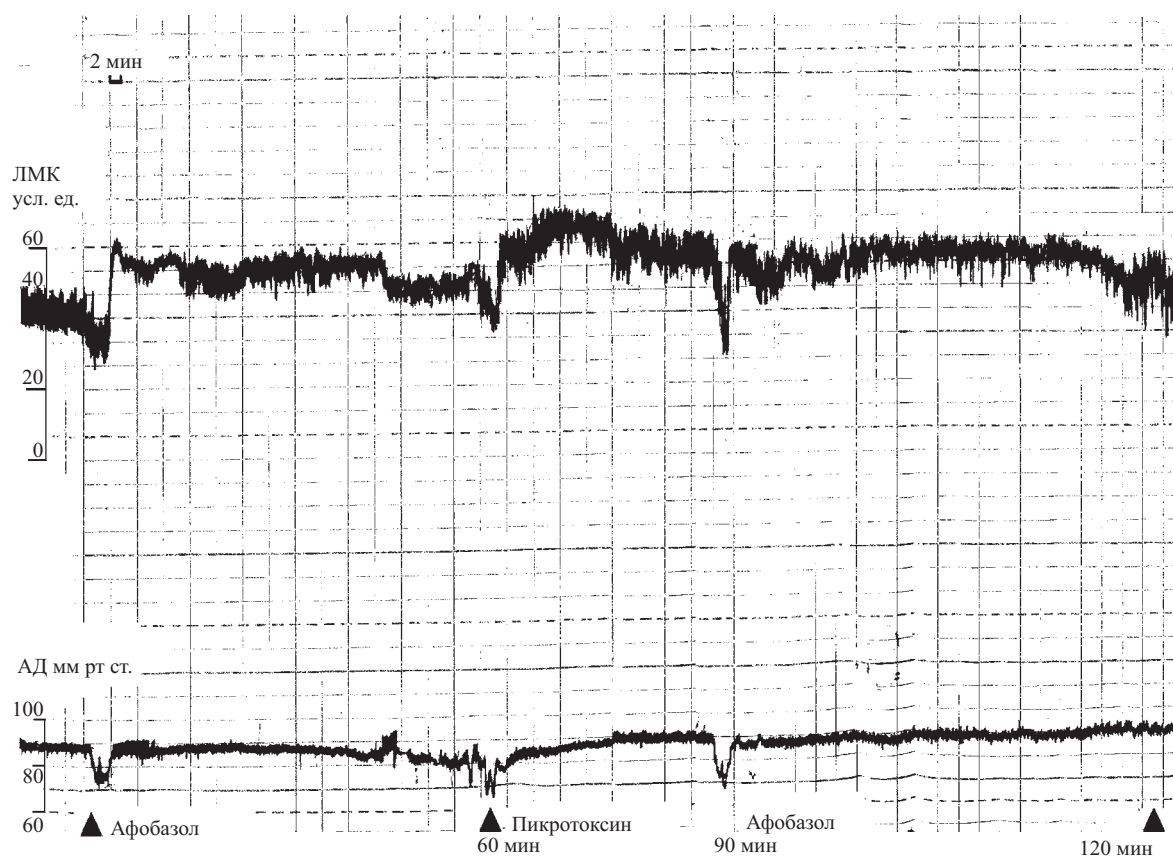


Рис. 2. Влияние пикротоксина (0,5 мг/кг внутривенно) на цереброваскулярный эффект афобазола (5 мг/кг внутривенно). Обозначения те же, что на рис. 1.

Далее было изучено влияние афобазола и пикамилона на мозговое кровообращение в условиях блокады хлорного канала ГАМК_A-рецептора пикротоксином. У интактных крыс ($n = 11$) афобазол вызывал увеличение локального мозгового кровотока на $22,8 \pm 3,4 \%$. Затем афобазол вводили повторно через 30 мин после пикротоксина. В этих условиях афобазол вызывал уве-

личение мозгового кровотока на $10,6 \pm 2,7 \%$ (разница статистически значима при $p < 0,05$). В одном опыте наблюдалась полная блокада действия афобазола пикротоксином, у 6 животных эффект препарата был значительно слабее, чем в контроле. У 3 крыс цереброваскулярный эффект афобазола на фоне пикротоксина не

Таблица 2. Влияние пикамилона на микроциркуляцию (МК, в усл. ед.) в коре большого мозга интактных крыс и в условиях блокады ГАМК_A-рецепторов бичукуллином

№ опыта	МК		Изменение МК	МК, после		Изменение МК после пикамилона на фоне бичукуллина
	контроль	после пикамилона		бичукуллина	пикамилона на фоне бичукуллина	
1	17	22	5	14	18	4
2	101	104	3	71	80	9
3	27	32	5	20	22	2
4	54	62	8	98	102	4
5	34	41	7	30	33	3
6	31	34	3	13	15	2
7	15	17	2	13	13	0
8	35	80	45	73	81	8
9	13	16	3	13	14	1
10	56	59	3	60	72	12
11	52	59	7	70	91	21
12	27	43	16	29	40	11
13	21	25	4	16	18	2
14	49	53	4	30	34	3
15	28	33	5	37	47	10
	$37,3 \pm 5,8$	$45,3 \pm 6,3$	$7,9 \pm 2,7$	$39,1 \pm 7,1$	$45,3 \pm 8,1$	$6,1 \pm 1,4$

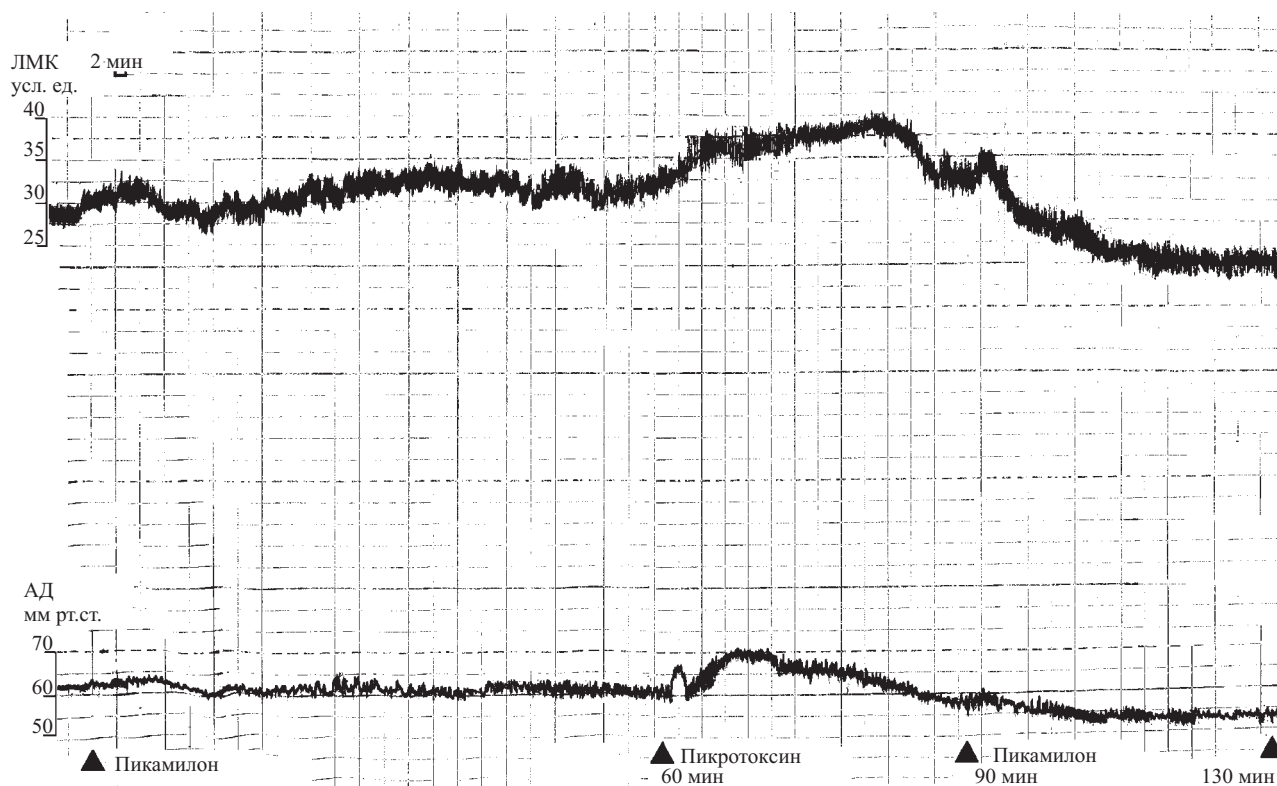


Рис. 3. Влияние пикротоксина (0,5 мг/кг внутривенно) на цереброваскулярный эффект пикамилона (10 мг/кг внутривенно). Обозначения те же, что на рис. 1.

изменился, в одном наблюдалось увеличение эффекта препарата (табл. 3, рис. 2).

Реакции артериального давления у животных на введение афобазола как до анализатора, так и на фоне действия пикротоксина не отличались друг от друга.

На фоне действия блокатора хлорных каналов пикамилон увеличил мозговой кровоток на $7,9 \pm 3,5 \%$. В контроле пикамилон вызывал увеличение мозгового кровотока у крыс ($n = 7$) в среднем на $41,4 \pm 10,4 \%$

(разница статистически значима при $p < 0,01$). Существенного влияния пикротоксин на влияние пикамилона на артериальное давление не оказывал (табл. 4, рис. 3).

Таким образом, цереброваскулярный эффект афобазола на фоне действия бикикуллина или пикротоксина существенно ослабляется, что свидетельствует о важной роли системы ГАМК в реализации действия препарата. По-видимому, выявленный механизм действия афобазола лежит в основе и его нейропротекторной

Таблица 3. Влияние афобазола на микроциркуляцию (МК, в усл. ед.) в коре головного мозга интактных крыс и в условиях блокады ГАМК_A-рецепторов пикротоксином

№ опыта	МК		Изменение МК	МК, после		Изменение МК после афобазола на фоне пикротоксина
	контроль	после афобазола		пикротоксина	афобазола на фоне пикротоксина	
1	30	33	3	50	52	2
2	46	54	8	46	57	11
3	62	69	7	64	68	4
4	43	60	17	60	63	3
5	19	24	6	24	25	1
6	18	19	1	17	18	1
7	21	27	6	18	24	6
8	26	36	10	16	19	3
9	44	66	22	85	85	0
10	14	17	3	14	17	3
11	43	56	13	60	64	4
	$33,3 \pm 4,6$	$41,9 \pm 5,8$	$8,7 \pm 1,9$	$41,3 \pm 7,4$	$44,7 \pm 7,4$	$3,5 \pm 0,9$

Таблица 4. Влияние пикамилон на микроциркуляцию (МК, в усл. ед.) в коре большого мозга интактных крыс и в условиях блокады ГАМК_A-рецепторов пикротоксином

№ опыта	МК		Изменение МК	МК, после		Изменение МК после пикамилон на фоне пикротоксина
	контроль	после пикамилон		пикротоксина	пикамилон на фоне пикротоксина	
1	12	17	5	13	13	0
2	30	35	5	34	36	2
3	43	45	2	45	45	0
4	31	48	17	45	55	10
5	15	20	5	15	18	3
6	28	50	22	65	70	5
7	15	26	11	24	24	0
	24,9 ± 4,2	34,4 ± 5,1	9,4 ± 2,8	34,4 ± 7,1	37,3 ± 7,8	2,9 ± 1,4

активности. Полученные данные о способности бикикуллина и пикротоксина устранять или существенно ослаблять цереброваскулярное действие афобазола согласуются с результатами опытов *ex vivo*, указывают на то, что афобазол предотвращает снижение ГАМК-бензодиазепиновой рецепции у животных с выраженной реакцией страха. Иная картина наблюдается при изучении ГАМК-ергического компонента в механизме действия пикамилон. Цереброваскулярный эффект пикамилон не претерпевает существенных изменений в условиях блокады ГАМК-рецепторов бикикуллином. Вместе с тем на фоне действия пикротоксина имеет место блокада или значительное снижение цереброваскулярной активности пикамилон. Следовательно, действие пикамилон реализуется через хлорный канал ГАМК_A-рецептора.

ВЫВОДЫ

1. Цереброваскулярный эффект афобазола значительно ослабляется на фоне бикикуллина или пикротоксина, что указывает на важную роль системы ГАМК в механизме его сосудистого и нейропротекторного действия.

2. Бикикуллин существенно не влияет на цереброваскулярный эффект пикамилон, тогда как блокада хлор-

ного канала ГАМК_A-рецептора пикротоксином значительно ослабляет сосудистое действие препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. Г. Баласанян, *Тезисы докладов 2-го съезда Российского научного общества фармакологов, "Фундаментальные проблемы фармакологии"*, 1, 57 (2003).
2. М. Г. Баласанян, *Автореф. дис. докт. фарм. наук*, Ереван (2003).
3. Ю. А. Бледнов, С. Б. Середенин, В. Л. Савельев и др., Патент РФ № 2061686, (1996).
4. С. А. Мирзоян, В. П. Акопян, *Фармакол. и токсикол.*, № 5, 572 – 573 (1967).
5. Р. С. Мирзоян, Т. С. Ганьшина, *Фармакол. и токсикол.*, т. 52, № 1, 23 – 26 (1989).
6. Р. С. Мирзоян, *Экспер. и клин. фармакол.*, 66(2), 53 – 56 (2003).
7. Г. Г. Незнамов, С. А. Сюняков, Д. В. Чумаков, С. Б. Середенин, *Экспер. и клин. фармакол.*, 64(2), 15 – 19 (2001).
8. С. Б. Середенин, Т. А., Воронина, Г. Г. Незнамов и др., *Вестн. РАМН*, № 11, 3 – 9 (1998).
9. И. В. Силкина, В. В. Александрин, Т. С. Ганьшина, и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, 67(5), (2004).
10. A. R. Green, A. H. Hainsworth, and D. M. Jackson, *Neuropharmacology*, 39, 1483 – 1494 (2000).
11. N. Matsumoto, E. Kumamoto, H. Furue, and M. Yoshimura, *J. Neurophysiol.*, 89(1), 257 – 64 (2003).

Поступила 24.09.04

GABAERGIC MECHANISM OF CEREBROVASCULAR AND NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF AFOBAZOLE AND PICAMILON

I. V. Silkina, T. S. Gan'shina, S. B. Seredenin, and R. S. Mirzoyan

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

The role of GABAergic mechanisms in realization of the effects of afobazole and picamilon on the cerebral circulation was studied in rats. It is found that the cerebrovascular effect of afobazole significantly decreases on the background of the GABA receptor antagonists bicuculline and picrotoxin. This is evidence of an important role of the GABA system in its cerebrovascular and neuroprotective activity of afobazole. The results of experiments with picamilon showed that the cerebrovascular effect of this drug is not affected by receptor blocking with bicucullin. However, the blocking of chloride channels of the GABA receptors by picrotoxin significantly decreased the effect of picamilon on the cerebral blood flow.