

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ СОВМЕСТНОГО ВВЕДЕНИЯ ВЕРАПАМИЛА И ОЛАНЗАПИНА НА СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ В СТРУКТУРАХ МОЗГА КРЫС ВИСТАР

В. С. Кудрин¹, П. М. Клодт¹, В. Б. Наркевич¹, С. Т. Гулиева²

Изучены эффекты совместного введения верапамила и оланзапина на содержание моноаминов и их метаболитов структурах мозга крыс Вистар. Обнаружено, что верапамил вызывает снижение оборота дофамина и серотонина, повышенного вследствие введения оланзапина, а также повышение уровня норадреналина практически во всех структурах мозга крыс.

Ключевые слова: оланзапин, верапамил, нейромедиаторы, высокоэффективная жидкостная хроматография, структуры мозга

ВВЕДЕНИЕ

Недостатком большинства используемых в настоящее время в клинике антипсихотических средств являются развивающиеся при их длительном применении экстрапирамидные нарушения [2]. Кроме того, 25 – 30 % пациентов, страдающих шизофренией, резистентны к существующим нейролептикам. В связи с этим одним из приоритетных направлений психофармакологии является поиск соединений с высоким антипсихотическим потенциалом, не вызывающих указанных побочных эффектов [3]. В настоящее время в клинике успешно применяется ряд таких лекарственных средств (сульпирид, клозапин, раклоприд, ремексиприд и др.) [7]. Среди этих препаратов выделяется оланзапин, уникальный спектр психофармакологических свойств которого, высокая клиническая эффективность, а также низкая частота возникновения побочных эффектов позволяют относить данный препарат к числу наиболее перспективных атипичных нейролептиков [15].

Не менее важной проблемой психофармакологии является изыскание средств, способных корригировать побочные эффекты нейролептиков [14]. К числу таких соединений в первую очередь следует отнести группу ингибиторов кальциевых каналов (ИКК), используемых в терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы и ряда нарушений неврологического генеза – инсульта, мигрени, сенильных расстройств [9, 12]. Накоплен также большой объем данных, свидетельствующих об антидепрессивных, анксиолитических и противосудорожных эффектах ИКК [4, 6]. В то же время имеющиеся данные об антидофаминергических эф-

фектах ИКК, в частности, верапамила, противоречивы. В литературе практически отсутствуют сведения о механизмах взаимодействия ИКК с атипичными нейролептиками, в частности, с оланзапином. В связи с этим целью данной работы являлось изучение влияния совместного введения верапамила и оланзапина на содержание нейромедиаторов в структурах мозга крыс Вистар.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 20 белых крысах-самцах линии Вистар массой 180 – 240 г. Оланзапин (“Eli Lilly”, США), растворяли с добавлением Твин-80 и доводили до нужного объема физиологическим раствором, верапамил (“Orion Farmaceutical”, Финляндия) растворяли в 0,9 % NaCl.

Препараты вводили внутривентриально: оланзапин (5 мг/кг) — за 2 ч, верапамил (2 мг/кг) — за 30 мин до забоя животных. Структуры мозга — фронтальная кора (ФК), гиппокамп, гипоталамус, стриатум, прилежащее ядро (ПЯ) — извлекали на льду и замораживали в жидком азоте. Перед экспериментами по определению содержания нейромедиаторов пробы размельчали в ручном гомогенизаторе (тефлон-стекло) в 20 объемах 0,1 н. HClO₄ с добавлением диоксибензиламина (0,5 нмоль/мл) в качестве внутреннего стандарта. Пробы центрифугировали при 10000 g в течение 10 мин. Содержание моноаминов и их метаболитов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией (ВЭЖХ/ЭД) на хроматографе LC-304T (BAS, “West Lafayette”, США) с аналитической колонкой Phenomenex (C₁₈, 4 × 150 мм, 4 мкм) [2]. Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При сочетанном введении оланзапина и верапамила обнаружено, что указанная комбинация соединений

¹ Лаборатория нейробиохимической фармакологии (руководитель — член-корр. РАМН К. С. Раевский) Института фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.

² Кафедра фармакологии (зав. — проф. М. М. Ганиев) Азербайджанского медицинского университета, Баку, ул. Бакуханова, 23.

вызывает разнонаправленные изменения содержания норадреналина (НА) в различных структурах мозга (таблица). Так, если в ФК верапамил не только устранял снижение содержания этого нейромедиатора в результате введения оланзапина, но и вызывал незначительное увеличение уровня НА (примерно на 20 %), то в ПЯ, напротив, отмечалась тенденция к снижению его концентрации. В других структурах мозга содержание НА не изменялось. Верапамил увеличивал содержание ДА в ФК и стриатуме, но снижал его в гиппокампе. Уровень метаболита ДА диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) возрастал в ФК и стриатуме, тогда как концентрация гомованилиновой кислоты (ГВК) – другого продукта деградации ДА, не изменялась ни в одной из изученных структур.

Следует отметить увеличение концентрации серотонина (5-НТ) при введении комбинации препаратов практически во всех структурах мозга животных, при этом наиболее выраженные изменения указанного параметра наблюдались в ФК и стриатуме (возрастание приблизительно на 40 %). Введение верапамила на фоне оланзапина практически не влияло на содержание 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) ни в одной из структур, за исключением коры, где уровень этого метаболита 5-НТ снижался на 40 %, достигая контрольных значений. Соотношение ДОФУК/ДА, свидетельствующее о скорости биodeградации ДА,

также не изменялось ни в одном из функциональных образований мозга, за исключением гиппокампа, в котором этот параметр значительно снижался (почти в 2 раза). Сходным образом понижался и показатель ГВК/ДА в стриатуме, ПЯ и в ФК, причем в последней структуре это снижение было наиболее значительным (в 4 раза). Величина соотношения 5-НТ /5-ОИУК уменьшалась практически во всех структурах, за исключением ПЯ.

Наблюдавшееся нами увеличение содержания НА согласуется с имеющимися в литературе сведениями о положительном влиянии хронического введения верапамила на этот биохимический параметр в ФК и гиппокампе, пониженный в условиях моделирования нарушений памяти с помощью β -блокатора пиндолола [8]. Те же авторы отмечают восстановление концентрации ДА практически до уровня контроля, что также согласуется с нашими данными об увеличении содержания этого нейромедиатора в ФК и гиппокампе. Следует отметить отчетливо прослеживающуюся тенденцию к возрастанию уровня ДОФУК во всех изученных структурах мозга. С другой стороны, из литературы известно, что при хроническом введении верапамила (10 мг/кг в течение 21 дня) происходило снижение содержания ДА (на 50 %) в стриатуме, в то время, как уровень ДОФУК не изменялся. Напротив, в ФК верапамил вызывал двукратное увеличение концентрации

Влияние совместного введения оланзапина (5 мг/кг) и верапамила (2 мг/кг) внутрибрюшинно на содержание моноаминов и их метаболитов в гипоталамусе, стриатуме, прилежащем ядре, фронтальной коре и гиппокампе мозга крыс

Препарат	НА	ДА	ДОФУК	ГВК	5-НТ	5 – ОИУК	ДОФУК/ДА	ГВК/ДА	5 – ОИУК/ 5-НТ
<i>Гипоталамус</i>									
Контроль	100,0 ± 5,7	100,0 ± 17,3	100,0 ± 9,1	100,0 ± 11,3	100,0 ± 11,5	100,0 ± 3,1	100,0 ± 10,1	100,0 ± 11,9	100,0 ± 11,1
Оланзапин	83,3 ± 5,8	90,2 ± 8,8	201,0 ± 21,9*	315,2 ± 45,3**	101,6 ± 12,3	107,5 ± 5,2	203,9 ± 18,3**	313,7 ± 37,7**	104,3 ± 10,1
Верапамил	103,7 ± 4,5	96,0 ± 3,5	161,5 ± 8,4*	164,3 ± 41,1	138,6 ± 2,5*	101,5 ± 4,5	154,1 ± 12,9*	151,1 ± 39,1	64,7 ± 3,6*
Олан + Вер	93,8 ± 9,0	103,9 ± 4,8	262,1 ± 14,8	298,7 ± 75,3	142,5 ± 3,1 [#]	112,9 ± 4,6	251,7 ± 60,2	251,4 ± 60,2	69,7 ± 1,9 [#]
<i>Стриатум</i>									
Контроль	100,0 ± 16,1	100,0 ± 6,0	100,0 ± 7,9	100,0 ± 7,4	100,0 ± 9,0	100,0 ± 3,1	100,0 ± 3,2	100,0 ± 9,1	100,0 ± 7,5
Оланзапин	100,1 ± 16,9	95,6 ± 5,3	348,0 ± 29,6**	442,9 ± 29,8**	99,5 ± 13,1	115,9 ± 7,5	375,2 ± 32,7**	464,0 ± 45,8**	120,6 ± 11,2
Верапамил	176,9 ± 16,8*	117,3 ± 3,1	120,9 ± 1,9*	80,3 ± 7,4	149,8 ± 5,2*	103,9 ± 5,1	104,5 ± 2,6	66,7 ± 6,8	65,0 ± 2,0**
Олан + Вер	111,6 ± 9,7	118,4 ± 3,2 [#]	436,1 ± 20,9 [#]	437,5 ± 26,0	129,1 ± 5,6 [#]	111,7 ± 4,3	372,9 ± 19,1	356,1 ± 19,4 [#]	81,2 ± 1,4 [#]
<i>Прилежащее ядро</i>									
Контроль	100,0 ± 9,8	100,0 ± 7,8	100,0 ± 6,5	100,0 ± 11,5	100,0 ± 5,2	100,0 ± 5,7	100,0 ± 4,3	100,0 ± 9,8	100,0 ± 8,1
Оланзапин	138,8 ± 27,8	91,1 ± 6,5	307,8 ± 39,1**	488,3 ± 56,7**	98,4 ± 8,3	114,2 ± 7,3	326,1 ± 30,2**	535,5 ± 43,6**	120,3 ± 12,6
Верапамил	137,8 ± 29,3	85,4 ± 8,6	95,0 ± 6,2	57,5 ± 6,1*	113,8 ± 12,4	80,6 ± 7,4*	112,8 ± 6,4	70,4 ± 7,6*	71,5 ± 6,3*
Олан + Вер	89,6 ± 18,0	92,1 ± 6,7	330,2 ± 28,0	445,6 ± 49,4	109,5 ± 13,6	97,1 ± 7,2	355,1 ± 23,3	490,9 ± 42,7 [#]	90,5 ± 9,0
<i>Фронтальная кора</i>									
Контроль	100,0 ± 13,5	100,0 ± 8,1	100,0 ± 13,6	100,0 ± 19,7	100,0 ± 7,5	100,0 ± 5,1	100,0 ± 17,1	100,0 ± 18,2	100,0 ± 10,9
Оланзапин	64,2 ± 2,2**	64,6 ± 8,6**	99,7 ± 17,9	366,8 ± 46,6**	79,0 ± 4,9**	144,8 ± 9,1**	152,1 ± 17,9*	639,5 ± 83,7**	163,1 ± 4,8*
Верапамил	145,7 ± 5,5*	151,4 ± 22,3*	273,2 ± 68,2**	83,7 ± 28,2	140,9 ± 6,4*	78,2 ± 14,6	196,5 ± 24,0**	61,2 ± 20,1	62,3 ± 1,1*
Олан + Вер	118,7 ± 6,0 [#]	149,7 ± 5,2 [#]	220,0 ± 29,6 [#]	249,4 ± 46,8	138,7 ± 7,4 [#]	100,0 ± 5,1 [#]	166,1 ± 19,6	163,5 ± 28,8 [#]	64,7 ± 2,8 [#]
<i>Гиппокамп</i>									
Контроль	100,0 ± 8,2	100,0 ± 31,2	100,0 ± 14,6	100,0 ± 49,7	100,0 ± 14,1	100,0 ± 3,2	100,0 ± 54,3	100,0 ± 64,9	100,0 ± 12,5
Оланзапин	91,4 ± 7,2	42,4 ± 8,6**	91,9 ± 11,3	111,9 ± 30,3	95,4 ± 11,3	124,1 ± 7,2*	186,0 ± 41,9**	43,7 ± 10,9	120,4 ± 12,1
Верапамил	117,0 ± 4,2	72,4 ± 9,7	94,6 ± 10,8	0	132,9 ± 11,7	97,5 ± 6,8	81,7 ± 12,6	0	65,4 ± 9,0*
Олан + Вер	108,5 ± 6,2	81,2 ± 12,2 [#]	93,2 ± 11,7	263,9 ± 140,4	115,7 ± 5,1	109,0 ± 3,9	90,4 ± 19,2 [#]	25,3 ± 11,4	79,0 ± 2,3 [#]

Примечание: Приведены средние значения и стандартные ошибки ($M \pm m$). Значимость отличий: * — по сравнению с контролем при $p < 0,05$; ** — при $p < 0,001$; [#] — по сравнению с оланзапином при $p < 0,05$ (t -критерий Стьюдента).

ДА, но не влиял на содержание ДОФУК, что, по мнению авторов, свидетельствует об участии ауторецепторов ДА в эффектах верапамила [13].

Следует отметить, что, несмотря на увеличение содержания ДА и ДОФУК, комплексный показатель ДОФУК/ДА практически не изменялся ни в одной из изученных структур, что свидетельствует о сохранении пропорциональности соотношений уровней этих медиаторов. С другой стороны, показатель ГВК/ДА в стриатуме, ПЯ и ФК значительно уменьшался, причем в последней структуре это снижение было наиболее значительным (в 4 раза), что, по-видимому, свидетельствует об угнетающем влиянии верапамила на уровень этого метаболита ДА.

Наблюдавшееся увеличение концентрации 5-НТ в ФК, гипоталамусе и стриатуме позволяет предположить наличие в рецепторном профиле данного ИКК аффинности к 5-НТ-рецепторам. Известно, что оланзапин обладает значительным сродством к данным рецепторам, оккупируя их, что проявляется в снижении уровня серотонина. Введение верапамила не только устраняло это уменьшение, но и увеличивало содержание 5-НТ почти на 100 %. Уровень 5-ОИУК при этом претерпевал прямо противоположные изменения — введение оланзапина вызывало увеличение его содержания на 50 %, тогда как верапамил полностью устранял это изменение. Описанное увеличение концентрации 5-НТ в структурах мозга закономерно вызвало снижение величины пропорции 5-ОИУК/5-НТ, что свидетельствует о преобладании процессов синтеза серотонина над процессами его биодegradации.

В последнее время появились данные, свидетельствующие о возможности прямого влияния нейролептиков на систему каналов Ca^{2+} . В частности, обнаружено, что ряд антипсихотических препаратов (в частности, тиоридазин, кломипрамин, флуоксетин и др.) ингибируют каналы кальция Т-подтипа *in vitro* [11]. Нельзя исключить также участие в фармакологическом ответе некоторых других нейромедиаторных систем, в частности, аминокислот- [10] и холинергической [5]. В целом, полученные результаты опытов по изучению влияния совместного введения оланзапина и верапамила на параметры нейропередачи в мозге позволяют придти к выводу о комплексном характере на-

блюдаемых эффектов, опосредуемых рецепторами различных нейромедиаторных систем мозга, в частности, дофамин- и серотонинергической.

ВЫВОДЫ

1. При нейрхимическом изучении эффектов совместного введения верапамила и оланзапина на содержание моноаминов и их метаболитов обнаружено снижение оборота дофамина и серотонина, повышенных вследствие введения оланзапина, практически во всех структурах мозга крыс.

2. При совместном введении оланзапина и верапамила последний вызывает повышение уровня норадреналина во всех изученных структурах мозга, за исключением прилежащего ядра.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. И. Мирошниченко, В. С. Кудрин, К. С. Раевский, *Фармакол. и токсикол.*, **51**(2), 26 – 29 (1988).
2. С. Н. Мосолов, *Шкалы психометрической оценки симптоматики шизофрении и концепция позитивных и негативных расстройств*, Новый свет, Москва (2001).
3. К. С. Раевский, *Межд. мед. ж.*, 1 – 2, 192 – 198 (2002).
4. A. Chakrabarti, H. Saini, and S. Garg, *Brain Res. Bull.*, **45**, 495 – 499 (1998).
5. V. Dolezal and S. Tucek, *Br. J. Pharmacol.*, **127**, 1627 – 1632 (1999).
6. P. Gareri, U. Falconi, P. De Fazio, and L. De Sarro, *Prog. Neurobiol.*, **61**, 353 – 396 (2000).
7. J. Goldstein, *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, **3**, 339 – 349 (2000).
8. M. Lazarova-Bakarova, S. Stancheva, B. Petkova, M. Genkova-Papasova, et al., *J. Physiol. Paris*, **91**, 301 – 305 (1995).
9. J. S. Markowitz, B. Wells and W. Carson, *Ann. Pharmacother.*, **29**, 603 – 609 (1995).
10. T. Momiyama and E. Koga, *J. Physiol.*, **533**(Pt 2), 479 – 492 (2001).
11. K. Mousavizadekh, P. Ghagourifar, and H. Sadeghi-Nejad, *J. Urol.*, **168**, 2716 – 2719 (2002).
12. D. Sareen, *J. Assoc. Physicians India*, **50**, 250 – 258 (2002).
13. M. Sitges and A. Guarneros, *Eur. Neuropsychopharmacol.*, **8**, 105 – 111 (1998).
14. K. Soares-Weiser and J. Rathbone, *Cochrane Database Syst. Rev.*, CD000206 (2004).
15. G. Tollefson and C. Taylor, *CNS Drug Rev.*, **6**, 303 – 364 (2000).

Поступила 16.11.04.

NEUROPHARMACOLOGICAL STUDY OF THE JOINT ACTION OF VERAPAMIL AND OLANZAPINE ON THE CONTENT OF NEUROTRANSMITTERS IN WISTAR RAT BRAIN STRUCTURES

V. S. Kudrin¹, P. M. Klodt¹, V. B. Narkevich¹, and S. T. Gulieva²

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

² Azerbaijan Medical University, ul. Bakukhanova 23, Baku, Azerbaijan

The effects of jointly administered olanzapine and verapamil on the level of neurotransmitters and their metabolites in Wistar rat brain structures have been studied. Verapamil (i) produces a statistically significant decrease in dopamine and serotonin turnover increased by olanzapine injections and (ii) increases the norepinephrine content in all the brain structures studied.