

ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРЕНОСИМОСТИ БЛОКАТОРОВ ЦЕНТРАЛЬНЫХ МУСКАРИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ

М. А. Юдин, В. Н. Быков, А. С. Никифоров, А. Ф. Курпякова, С. Н. Субботина, И. М. Иванов, М. А. Тюнин, И. В. Фатеев, Н. Г. Венгерович¹

В экспериментах изучена переносимость пяти антагонистов мускариновых рецепторов. По влиянию на ориентировочно-исследовательскую реакцию препараты расположились в порядке увеличения токсичности: проциклидин < тригексифенидил < бенактизин < атропин < скополамин. При равном терапевтическом индексе препаратов тригексифенидил и бенактизин характеризовались наибольшей переносимостью ($ТД_{50}/ЕД_{50}$ более 10) у мышей. Скополамин и атропин проявляли противосудорожное действие в дозах, превышающих в 6,3 и 3,9 раза дозы, вызывающие нарушение ориентировочно-исследовательского поведения. Только для проциклидина средняя противосудорожная доза была в 3 раза ниже пороговой. Бенактизин и проциклидин характеризовались наибольшей переносимостью при введении крысам. Отношение $ТД_{50}/ЕД_{50}$ для средств составило более 3, против 0,5–0,7 в группах с введением тригексифенидила, атропина и скополамина.

Ключевые слова: м-холиноблокаторы; токсичность; переносимость

ВВЕДЕНИЕ

До настоящего времени блокаторы центральных м-холинорецепторов (м-ХР) остаются незаменимыми средствами для неотложной терапии отравлений органофосфатами [13]. Эти препараты применяются при лечении экстрапирамидных заболеваний [6], а также для предупреждения таких расстройств как акатизия [10], дискинезия [11], вызываемых нейролептиками (хлорпромазин и галоперидол). Несмотря на широкое внедрение дофаминергических препаратов блокаторы м-ХР остаются средствами выбора для лечения болезни Паркинсона [5]. Показано, что на ранних этапах заболевания применение мускариновых антагонистов не только уменьшает непроизвольный тремор, но и замедляет возникновение необходимости использования агонистов дофаминовых рецепторов. Учитывая то, что эффективность последних, зачастую, ограничивается 5–10 годами приема, рациональное использование блокаторов м-ХР улучшает качество жизни пациентов с болезнью Паркинсона [8].

В тоже время применение блокаторов м-ХР сопряжено с высокой частотой развития побочных эффектов. Зачастую именно риск их развития определяет снижение частоты назначения мускариновых антагонистов при Паркинсонизме. Выраженность побочных препаратов носит дозозависимый характер. В малых дозах препараты вызывают увеличение времени реакций и числа ошибок, в больших дозах — нарушают условнорефлекторную деятельность, восприятие, вызывают атаксию и “холинергическое опьянение”. В пороговых дозах препараты обладают амнестическим действием. Очевидно, что этот критерий должен учитываться при подборе дозы препарата.

Учитывая сохраняющуюся актуальность использования антихолинергических средств в клинической практике и низкую безопасность их применения, цель настоящего исследования состояла в экспериментальном исследовании переносимости блокаторов м-ХР.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В экспериментах на 220 белых крысах-самцах и 450 мышцах-самцах исследована фармакологическая активность бенактизина, тригексифенидила, проциклидина и скополамина. В качестве препарата сравнения использовали атропин. Субстанции препаратов растворяли в воде и вводили мышам и крысам, соответственно внутривентриально и внутримышечно в дозах 0,2–300 мг/кг.

Пороговые дозы блокаторов м-ХР по влиянию на ориентировочно-исследовательскую реакцию мышей определяли в тесте “открытое поле” [1]. В качестве критерия порогового воздействия препаратов считали достоверное изменение хотя бы одного из параметров

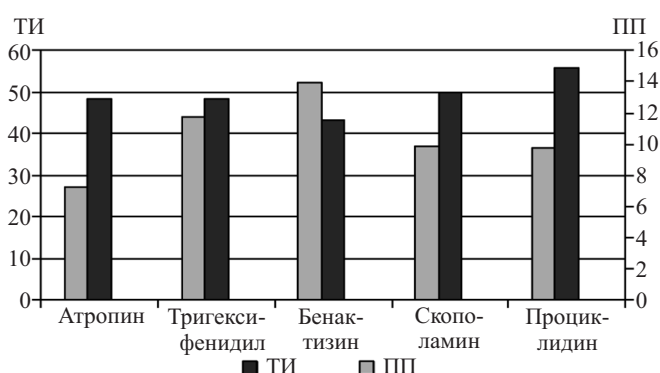


Рис. 1. Терапевтические индексы и показатели переносимости блокаторов м-ХР при введении мышам.

¹ Научно-исследовательский испытательный институт военной медицины ВМА им. С. М. Кирова, 195043, Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, 4.

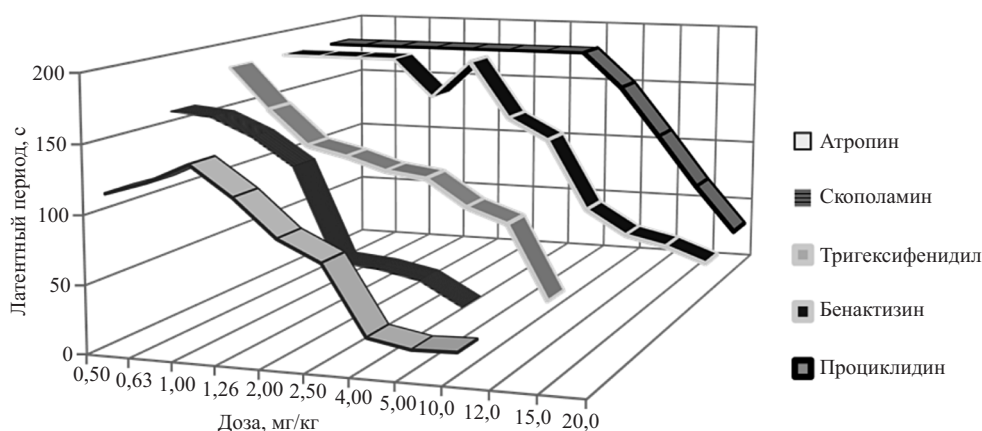


Рис. 2. Влияние блокаторов м-ХР на латентный период перехода крыс из светлой в темную камеру (условный рефлекс) в тесте УРПИ.

поведения крыс в группе. Влияние препаратов на координацию движений оценивали с помощью теста “Rota-Rod” [9]. Рассчитывали средние токсические дозы (TD_{50}) блокаторов м-ХР, вызывающие атаксию у половины крыс. В качестве критерия атаксии рассматривали неспособность крыс удерживаться на вращающемся стержне в течение 80 с в трех попытках.

Противосудорожную активность препаратов оценивали по латентному периоду развития и длительности судорог при отравлении животных диизопропилфторфосфатом (ДФФ) в дозе 1 ЛД₅₀. Рассчитывали средние эффективные противосудорожные дозы ($ED_{50 \text{ суд}}$) блокаторов м-ХР, вызывающие купирование судорог у половины животных, получивших ДФФ, не позднее 120 мин от начала интоксикации. Определяли среднее эффективное время (ET_{50}) купирования судорог при введении препаратов в дозе 1 $ED_{50 \text{ суд}}$.

Влияние препаратов на воспроизведение краткосрочной памяти у крыс изучали в тесте условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) [2]. На основании изменения латентного периода перехода животных из светлого в темный отсек рассчитывали средние токсические дозы ($TD_{50 \text{ УРПИ}}$), вызывающие “срыв” условно-

го рефлекса у половины животных. В качестве критерия развития мнестических нарушений принимали забывание (переход крыс из светлой в темную камеру при тестировании в течение 3 мин) сформированного навыка у обученных животных через 3 ч введения блокаторов м-ХР.

Для каждого препарата определяли средние летальные дозы (LD_{50}), вызывающие гибель половины животных в течение 14 сут после их введения. Используя средние токсические и эффективные дозы препаратов, сравнивали их безопасность и переносимость по терапевтическому индексу ($TI = LD_{50}/ED_{50}$) и показателю переносимости ($ПП = TD_{50}/ED_{50}$) [5].

Статистическую обработку данных проводили с помощью t-критерия Стьюдента и теста Манна-Уитни. Расчет средних доз осуществляли методом пробит-анализа по Финни [8]. Для оценки межгрупповых различий пользовались χ^2 -критерием Пирсона [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты экспериментов на мышах. Блокаторы м-ХР в пороговых дозах вызывали достоверное изменение одного или двух параметров поведения у мы-

Таблица 1. Ориентировочно-исследовательская активность мышей в тесте “открытое поле” после введения блокаторов м-ХР в пороговых дозах ($n = 8$, $M \pm m_M$)

Параметры	Контроль	Атропин 0,8 мг/кг	Тригексифенид 1,6 мг/кг	Бенактизин 1,0 мг/кг	Скополамин 0,3 мг/кг	Проциклидин 10 мг/кг
Латентный период выхода из центра, с	1,2 ± 0,47	1,4 ± 0,53	1,3 ± 0,64	1,3 ± 0,48	1,9 ± 0,67	2,6 ± 1,65
Число пересечений квадратов	79,1 ± 4,52	75,3 ± 7,18	73,1 ± 6,94	74,7 ± 11,05	81,2 ± 10,25	75,9 ± 6,44
Общее число стоек	17,4 ± 2,42	15,3 ± 5,16	16,8 ± 5,62	9,0 ± 3,63*	10,4 ± 1,19*	7,5 ± 2,55*
Число обследованных норок	16,0 ± 1,05	15,2 ± 1,15	16,2 ± 1,64	15,0 ± 2,04	16,2 ± 2,00	14,1 ± 2,30
Число поворотов	15,5 ± 0,93	21,8 ± 2,13*	20,7 ± 1,92*	17,6 ± 2,84	15,3 ± 2,16	7,9 ± 0,77***
Число периодов неподвижности	0,2 ± 0,09	0,2 ± 0,06	0,1 ± 0,13	0,7 ± 0,49	0,1 ± 0,13	0,1 ± 0,13
Продолжительность периодов неподвижности, с	1,3 ± 0,79	1,5 ± 0,87	0,7 ± 0,71	20,4 ± 15,23	0,9 ± 0,79	1,6 ± 1,65
Число актов груминга	2,1 ± 0,48	0,9 ± 0,35	1,4 ± 0,37	0,5 ± 0,19**	0,7 ± 0,24*	0,6 ± 0,26*
Продолжительность актов груминга, с	7,6 ± 2,10	7,2 ± 2,83	5,0 ± 1,96	6,9 ± 4,26	5,3 ± 1,81	2,1 ± 1,09*

Примечание. Здесь и в табл. 2 отличия по отношению к контролю достоверны при:

* — $p \leq 0,05$; ** — $p \leq 0,01$; *** — $p \leq 0,001$.

Таблица 2. Эффективность применения блокаторов м-ХР на модели ДФФ-индуцированных судорог у мышей ($M \pm m_M, n = 8$)

Группа/препарат	ET ₅₀ , мин	ЕД ₅₀ суд., мг/кг	Возобновление судорог
Контроль	304,5 ± 34,06	-	-
Атропин	210,4 ± 20,18*	3,1 ± 0,67	-
Тригексифенидил	89,0 ± 4,30***	3,7 ± 0,53	-
Бенактизин	125,3 ± 15,27**	2,6 ± 0,85	-
Скополамин	192,6 ± 17,30*	1,9 ± 0,75	-
Проциклидин	45,1 ± 2,72***	3,3 ± 0,71	60 – 90 мин

шей (табл. 1). При введении проциклидина (10 мг/кг) отмечали уменьшение количества стоек, поворотов и груминга. Эти изменения указывали на угнетение исследовательского поведения и эмоционального статуса животных.

Тригексифенидил (1,6 мг/кг) и атропин (0,8 мг/кг) увеличивали число поворотов (при $p \leq 0,05$), что отражало нарушение ориентировочного компонента поведения. Введение бенактизина и скополамина в пороговых дозах 1 и 0,3 мг/кг, соответственно, сопровождалось снижением исследовательской активности, которую оценивали по количеству стоек. Применение препаратов в дозах, превышающих пороговые, сопровождалось существенными нарушениями структуры поведения мышей. Полученные данные позволили заключить, что скополамин, бенактизин и проциклидин в пороговых дозах проявляют угнетающий эффект на поведение животных. Увеличение числа поворотов

Таблица 3. Влияние блокаторов м-ХР на координацию движений и их ЛД₅₀ при введении мышам ($n = 8, M \pm m_M$)

Группа/препарат	Доза, мг/кг	Количество попыток	Время пробежки, с	ТД ₅₀ , мг/кг	ЛД ₅₀ , мг/кг
Атропин	15	0,5 ± 0,34	113,1 ± 6,22	22,5 ± 2,29	150,4 ± 10,18
	20	0,8 ± 0,31	86,4 ± 15,85		
	25	1,2 ± 0,64	69,0 ± 13,40		
	30	2,0 ± 0,37	62,3 ± 24,48		
Тригексифенидил	25	0 ± 0,0	120,0 ± 0,00	43,5 ± 10,0	178,7 ± 11,83
	50	1,5 ± 0,87	85,8 ± 20,89		
	75	1,5 ± 0,87	77,3 ± 17,27		
Бенактизин	15	0 ± 0,0	120,0 ± 0,00	36,3 ± 5,69	112,2 ± 3,62
	25	0,8 ± 0,75	99,8 ± 20,25		
	50	1,5 ± 0,87	67,0 ± 28,45		
Скополамин	15	0,5 ± 0,22	100,1 ± 12,27	18,7 ± 2,38	95,2 ± 7,85
	20	1,3 ± 0,21	94,6 ± 8,45		
	25	1,8 ± 0,17	58,4 ± 12,18		
Проциклидин	20	0,5 ± 0,38	100,1 ± 9,04	32,1 ± 4,78	184,8 ± 9,11
	32	0,8 ± 0,49	97,0 ± 15,52		
	40	1,0 ± 0,71	100,3 ± 7,96		
	50	2,0 ± 0,42	59,5 ± 13,47		

указывало на возбуждающий эффект атропина и тригексифенидила.

Введение мышам препаратов уменьшало длительность ДФФ-индуцированных судорог. Для большинства холиноблокаторов ЕД₅₀суд превышали дозы, вызывающие изменения ориентировочно-исследовательской реакции (табл. 2). У скополамина и атропина, ЕД₅₀суд превышала пороговую дозу в 6,3 и 3,9 раз, соответственно. Только ЕД₅₀суд проциклидина была ниже дозы, вызывающей изменения в поведении мышей. Препарат быстро купировал судороги, однако в отличие от других блокаторов м-ХР длительность его действия была минимальной, что по всей видимости, определило развитие реинтоксикации с возобновлением судорог через 60 – 90 мин после отравления мышей ДФФ.

При введении блокаторов м-ХР в больших дозах у животных отмечали беспокойство, повышение двигательной активности, мышечную слабость и нарушение координации. Увеличение дозы препаратов вызывало дозозависимое уменьшение времени пробежки и увеличение количества попыток к удержанию на вращающемся стержне в течение 80 с. В максимальных дозах блокаторы м-ХР вызывали двукратное уменьшение времени нахождения мышей на вращающемся стержне. Полученные данные позволили рассчитать токсические дозы препаратов (табл. 3).

По величине ТД₅₀ блокаторы м-ХР расположились в следующем порядке: тригексифенидил > бенактизин > проциклидин > атропин > скополамин, а их величины в 4 – 6 раз были ниже среднелетальных доз. По результатам исследования острой токсичности препараты расположились в следующем порядке: проциклидин > тригексифенидил > атропин > бенактизин > скополамин.

Результаты позволили рассчитать терапевтический индекс (ТИ) и показатель переносимости (ПП) блокаторов м-ХР (рис. 1).

Терапевтические индексы блокаторов м-ХР отличались незначительно и соответствовали диапазону 48 – 56. По показателям переносимости препараты значительно различались между собой и соотносились следующим образом: атропин (7,4) < скополамин (9,7) = проциклидин (9,8) < тригексифенидил (11,8) < бенактизин (13,9).

Результаты экспериментов на крысах. Блокаторы м-ХР при введении крысам в дозах 0,2 – 20 мг/кг не вызывали нарушения (безусловного) норкового рефлекса. Способность воспроизведения УРПИ обратно пропорционально зависела от доз препаратов, при этом влияние атропина и скополамина на память было наиболее выраженным. Отмечали снижение латентного периода захода в темную камеру отмечали и срыв выработки УРПИ при введении атропина, скополамина, тригексифенидила, проциклидина и бенактизина в дозах 4, 2, 5, 12, 10 мг/кг и более, соответственно (рис. 2).

По величине ТД₅₀УРПИ препараты расположились в следующем порядке: проциклидин > бенактизин > тригексифенидил > скополамин = атропин (табл. 4).

Таблица 4. Средние эффективные и токсические дозы блокаторов м-ХР при их введении крысам ($M \pm m_M$, $n = 8$)

Группа/препарат	ED ₅₀ суд, мг/кг	TD ₅₀ урпи, мг/кг	ПП	ЛД ₅₀ , мг/кг	ТИ
Атропин	2,1 ± 0,36	1,0 ± 0,33	0,5	215,6 ± 15,70	102,6
Тригексифенидил	2,8 ± 0,87	1,9 ± 0,77	0,7	197,9 ± 12,62	70,6
Бенактизин	1,7 ± 0,29	5,1 ± 1,46	3,0	135,0 ± 14,36	79,4
Скополамин	1,6 ± 0,54	1,0 ± 0,33	0,6	126,2 ± 9,68	78,9
Проциклидин	3,4 ± 0,62	11,5 ± 1,40	3,4	280,5 ± 25,61	82,5

По величине ЛД₅₀ блокаторы м-ХР расположились следующим образом в порядке возрастания токсичности: проциклидин, атропин, тригексифенидил, бенактизин и скополамин. Выявленная последовательность, в целом, соответствовала их распределению по токсичности для мышей. Более высокий показатель ЛД₅₀ препаратов для крыс, по сравнению с мышами, может быть обусловлен различным представителем ХР [1].

Учитывая то, что проциклидин и бенактизин нарушали условнорефлекторную деятельность в дозах существенно превышающих их противосудорожные дозы (ED₅₀суд), ПП для этих препаратов был максимальным и находился в пределах 3,0 – 3,4. ПП для остальных препаратов был ниже 1. По величине ТИ наибольшие значения отмечали у атропина, а минимальные у тригексифенидила. У остальных холиноблокаторов показатель соответствовал диапазону 79 – 82. Суммируя данные переносимости на мышях и крысах, распределение препаратов по ПП представляется следующим образом: проциклидин = бенактизин > тригексифенидил > атропин ≥ скополамин.

ВЫВОДЫ

1. Действие проциклидина на ориентировочно-исследовательскую реакцию и условный рефлекс пассивного избегания по сравнению с другими препаратами было наименее выражено. Только в отношении этого препарата средние эффективные противосудорожные дозы были ниже доз, вызывающих изменения в поведении мышей.

2. При равном терапевтическом индексе тригексифенидил и бенактизин характеризовались наибольшим показателем переносимости при введении мышам.

3. Дозы бенактизина и проциклидина, вызывающие мнестические расстройства у крыс, существенно превышают ED₅₀суд. Показатель переносимости для этих препаратов был максимальным и составил 3,0 – 3,4, против 0,5 – 0,7 в группах с введением тригексифенидила, атропина и скополамина.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Б. Прозоровский, *Усп. физиол. наук*, **11**(2), 34 – 44 (1980).
2. В. К. Федоров, М. Х. Ситуиков, Н. В. Ширяева, *Журн. высш. нерв. деят.*, **22**(3), 624 – 627 (1972).
3. В. С. Генес, *Некоторые простые методы кибернетической обработки данных диагностических и физиологических исследований*, Наука, Москва (1967).
4. Д. Ф. Августович, И. Л. Коваленко, Л. А. Корякина, *Рос. физиол. журн.*, **92**(5), 567 – 575 (2006).
5. С. Г. Дагаев, О. А. Филько, Л. Г. Кубарская, *Труды института токсикологии под ред. проф. С. П. Нечипоренко*, СПб, 48 (2010).
6. С. М. Машковский, *Лекарственные средства*, РИИ “Новая волна”: издатель Умеренков, Москва (2008).
7. Т. А. Гуськова, *Токсикология лекарственных средств*, МВД, Москва (2008).
8. D. J. Finney, *Probit analysis (3rd ed.)*, New York: Cambridge University Press. (1971), cc. 333.
9. H. Shiotsuki, K. Yoshimi, Y. Shimo, *J. Neurosci. Methods*, **189**(2), 180 – 185 (2010).
10. J. Rathbone, K. Soares-Weiser, *Cochrane Database Syst. Rev.*, **4** (2006).
11. K. V. Soares, J. J. McGrath, *Cochrane Database Syst. Rev.*, **2** (2000): CD000209.
12. R. Dion, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **2**(2), 39 – 46 (1999).
13. T. Myhrer, N. H. Nguyen, S. Enger, P. Aas, *Arch. Toxicol.*, **80**(8), 502 – 507 (2006).

Поступила 08.07.13

STUDY OF TOLERANCE OF CENTRAL MUSCARINIC RECEPTOR BLOCKERS

M. A. Yudin, V. N. Bykov, A. S. Nikiforov, A. F. Kurpyakova, S. N. Subbotina, I. M. Ivanov, M. A. Tyunin, I. V. Fateev, and N. G. Vengerovich

Scientific Research Institute of Military Medicine, Ministry of Defense of, Russian Federation, ul. Lesoparkovaya, 4, St. Petersburg, 105043, Russia

The tolerance of five central muscarinic receptor antagonists has been studied in experimental animals. According to the effect on orientation-exploratory reaction, drugs were arranged in the following order of increasing toxicity: procyclidine < trihexiphenidyl < benactazine < atropine < scopolamine. For the same therapeutic index, trihexiphenidyl and benactazine were characterized by the maximum tolerance ($TD_{50}/ED_{50} > 10$) in mice. Scopolamine and atropine exhibited anticonvulsant activity at doses exceeding the threshold values by a factor of 6.3 and 3.9, respectively. For procyclidine, the average anticonvulsant dose was threefold lower than the threshold value. Benactazine and procyclidine had maximum tolerance levels in rats. The TD_{50}/ED_{50} ratio for these drugs was greater than 3 (against 0.5 – 0.7 in groups treated with trihexiphenidyl, atropine and scopolamine).

Keywords m-cholinoblockers; toxicity; tolerance