

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

АНАЛИЗ МЕХАНИЗМА ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНОГО ЭФФЕКТА ГИМАНТАНА

Т. С. Ганьшина, Е. В. Курза, Д. В. Масленников, И. Н. Курдюмов,
А. В. Гнездилова, Р. С. Мирзоян¹

В опытах на нелинейных интактных и подвергнутых ишемии мозга крысах изучено влияние противопаркинсонического препарата гимантан на мозговое кровообращение. Установлено, что гимантан в дозе 10 мг/кг вызывает длительное увеличение локального мозгового кровотока у крыс в условиях глобальной преходящей ишемии (на 30 – 40 %, 90 мин, $p \leq 0,05$), тогда как цереброваскулярная активность препарата у интактных крыс проявляется в течение 20 мин. Проведенный анализ цереброваскулярного эффекта гимантана с использованием галоперидола и бикикуллина позволил установить, что увеличение мозгового кровотока при ишемии, в основном, обусловлено воздействием препарата на ГАМК-ергические механизмы регуляции тонуса сосудов мозга, так как бикикуллин значительно ослабляет сосудорасширяющий эффект препарата, а блокатор дофаминовых рецепторов таким действием не обладает.

Ключевые слова: гимантан, болезнь Паркинсона, мозговое кровообращение, глобальная преходящая ишемия мозга, галоперидол, бикикуллин, крысы.

ВВЕДЕНИЕ

В ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова” разработан новый препарат для лечения болезни Паркинсона, получивший название гимантан — N-(2-адамантил)гексаметиленмина гидрохлорид [1, 5].

Изучение механизма действия гимантана позволило выявить его способность оказывать влияние на различные нейромедиаторные системы мозга. Препарат оказывает модулирующее действие на дофаминовые и серотониновые рецепторы, а также на обратный захват дофамина. Субхроническое введение гимантана крысам в условиях *ex vivo* приводит к увеличению количества D_1 -рецепторов в стриатуме и 5-HT_{1A}-рецепторов в гиппокампе с одновременным снижением количества 5-HT_{2A}-рецепторов во фронтальной коре, как в норме, так и при МФТП (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин)-вызванном паркинсоническом синдроме у животных. Гимантан не влияет на уровень белка дофаминового транспортера (DAT) в стриатуме мышей линии C57Bl/6 и на скорость обратного захвата [³H]-ДА. Совместное введение препарата с МФТП вызывает значительное снижение уровня DAT [6]. Субхроническое введение гимантана интактным животным и животным на фоне МФТП, напротив, приводит к увеличению количества DAT в стриатуме и фронтальной коре, а также увеличивает скорость обратного захвата [3H]-ДА в стриатуме [3].

Методом внутримозгового диализа показано, что гимантан повышает уровень внеклеточного глутамата и аспартата в стриатуме крыс, что характерно для ан-

тагонистов NMDA рецепторов [11]. Методом patch-clamp на изолированных пирамидных нейронах гиппокампа установлено, что препарат является низкоаффинным неконкурентным блокатором ионного канала глутаматных NMDA-рецепторов [4]. В опытах *in vitro* у гимантана обнаружены свойства неконкурентного обратимого ингибитора моноаминоксидазы В (MAO-B). С помощью метода хемилюминесценции с использованием незамещенного 3-оксипиридина и аскорбат-зависимого перекисного окисления липидов в гомогенате печени крысы показано, что гимантан проявляет умеренные антирадикальные и антиоксидантные свойства [2]. В условиях модели интрацеребральной посттравматической гематомы гимантан снижает смертность крыс, улучшает мышечный тонус и координацию, ориентировочно-исследовательское поведение, обучение и память [7].

Целью настоящего исследования явилось изучение цереброваскулярных свойств гимантана у интактных крыс и животных в условиях ишемического поражения мозга, а также исследование механизма его действия на сосуды мозга.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 40 наркотизированных (хлоралгидрат 350 – 400 мг/кг, внутривенно) нелинейных крысах-самцах массой 250 – 300 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 фирмы “Transonic System Inc” (США). Игольчатый датчик

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

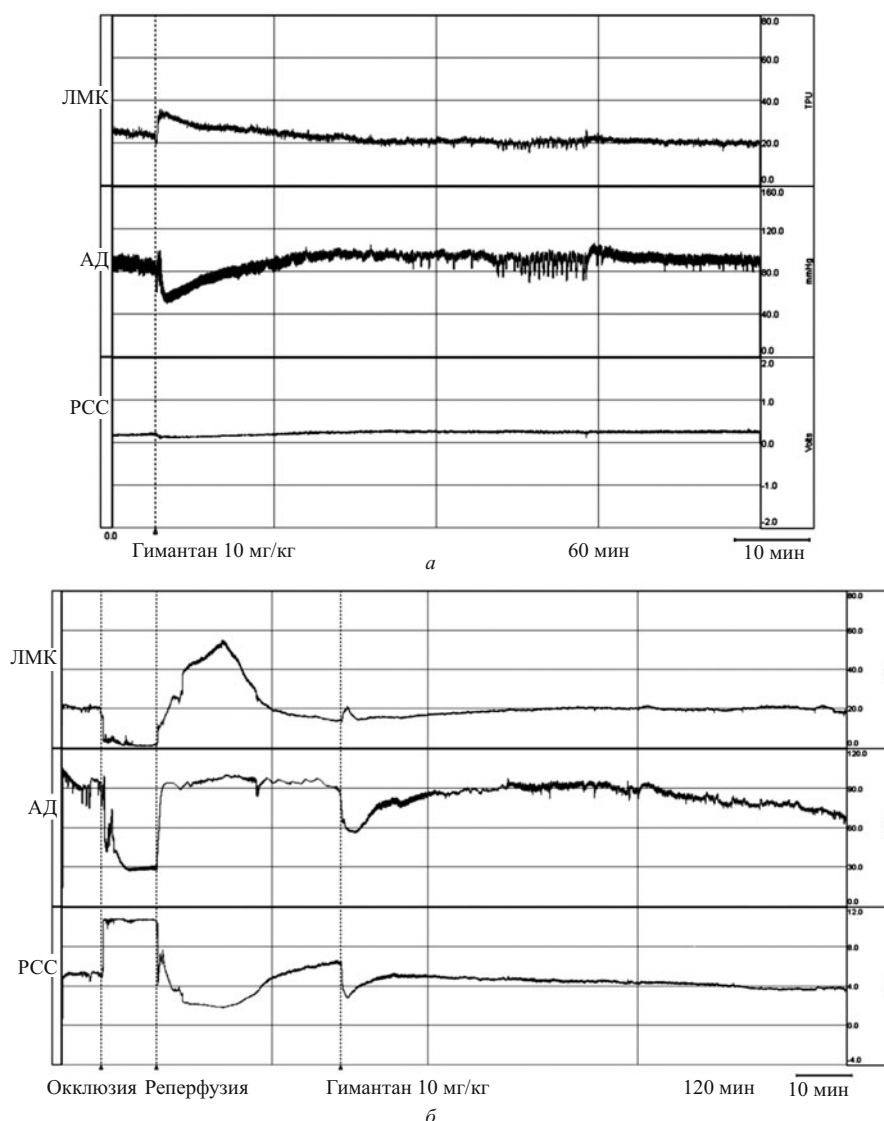


Рис. 1. Влияние гингана (10 мг/кг, внутривенно) на локальный мозговой кровоток (ЛМК в у. е.), артериальное давление (АД в мм рт. ст.) и расчетное сопротивление сосудов (РС) крыс: интактных (а) и после глобальной преходящей ишемии (б).

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 и артериального давления производили на полиграфе фирмы “БИОРАК” США, соединенном с персональным компьютером.

Глобальную 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 [9]. Исследуемые вещества — гингтан (10 мг/кг), синтезированный в опытно-технологическом отделе ФГБНУ “НИИ фармакологии им.

В. В. Закусова”, галоперидол (1 мг/кг) и бикакуллин (0,5 мг/кг, “Serva”) — вводили через полиэтиленовый катетер в бедренную вену животных.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistika 8.0 (Statistika Inc., США). Нормальность распределения определяли с помощью критерия Шапиро – Уилка. Для дальнейшей обработки данных использовали непараметрический двухвыборочный знаково-ранговый критерий Вилкоксона. Средние данные в тексте представлены в виде медианы. Результаты рассматривали как значимые при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние гингана на кровоснабжение мозга крыс интактных и после глобальной преходящей ишемии

Проведенные опыты на наркотизированных интактных крысах показали, что гингтан в дозе 10 мг/кг

(внутривенно) сразу после введения вызывает увеличение локального мозгового кровотока в коре головного мозга крыс в среднем на 33 % ($p \leq 0,05$). Увеличение кровотока наблюдается в течение 20 мин, а затем кровоток снижается до контрольной величины. Уровень артериального давления у крыс в этих опытах снижается сразу после введения гимантана в среднем на 15 %, затем через 10 мин наблюдается небольшое его повышение и к концу эксперимента восстановление до исходного уровня (рис. 1, 2).

В следующей серии опытов исследовали влияние гимантана на мозговое кровообращение крыс в условиях ишемического поражения мозга. Опыты показали, что гимантан в той же дозе и при том же способе введения наркотизированным крысам вызывает статистически значимое увеличение локального мозгового кровотока в коре, которое наблюдается, в отличие от интактных животных, в течение всего эксперимента (90 мин) и составляет 32 – 44 % ($p \leq 0,05$) (рис. 1, 2). Следует отметить, что уровень артериального давления под влиянием гимантана в этих опытах понижается в течение 10 мин, а затем восстанавливается до контрольных величин.

Изучение механизма цереброваскулярного эффекта гимантана

Гимантан, как было указано ранее, повышает содержание внеклеточного дофамина, снижает содержание его метаболитов в стриатуме крыс и оказывает модулирующее влияние на дофаминовые рецепторы и обратный захват дофамина. Согласно полученным нами ранее данным дофамин вызывает увеличение мозгового кровотока в коре головного мозга крыс в зоне повреждения в условиях локальной перманентной ишемии мозга [10]. Поэтому можно было допустить, что увеличение мозгового кровотока под влиянием гимантана связано с его воздействием на дофаминергические системы мозга и сосудов.

Для решения этого вопроса мы изучили влияние гимантана на мозговое кровообращение в условиях блокады дофаминовых рецепторов галоперидолом. Эксперименты на крысах в условиях глобальной преходящей ишемии мозга показали, что гимантан на фоне действия галоперидола (1 мг/кг, внутривенно) вызывает увеличение кровотока в коре головного мозга крыс в среднем на 25 % ($p \leq 0,05$), которое сохраняется до конца эксперимента (70 мин). Статистически значимая разница между изменениями мозгового кровотока под влиянием гимантана в опытах с ишемией мозга и с ишемией мозга на фоне действия галоперидола отсутствует. Уровень артериального давления в этих опытах сразу после введения гимантана снижается, а затем повышается в среднем на 14 – 16 %. Следовательно, блокада дофаминовых рецепторов не устраняет сосудорасширяющего эффекта гимантана, что указывает на отсутствие участия дофаминергических механиз-

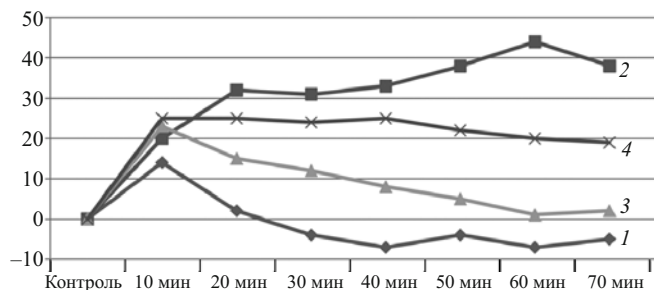


Рис. 2. Сводные данные по влиянию гимантана (10 мг/кг, внутривенно) на локальный мозговой кровоток в коре головного мозга крыс интактных (Интактные – 1), после глобальной преходящей ишемии (Ишемия – 2), на фоне действия бикукуллина (БК + Ишемия – 3) и на фоне действия галоперидола (Гал. + Ишемия – 4).

По оси ординат — изменение локального мозгового кровотока, %; по оси абсцисс — время, мин.

мов мозга в цереброваскулярном эффекте препарата (рис. 2).

Далее была исследована роль ГАМК_A-рецепторов в реализации цереброваскулярного эффекта гимантана. Интерес к изучению роли ГАМК-ергических механизмов в реализации цереброваскулярного эффекта гимантана обусловлен тем, что цереброваскулярная активность гимантана возрастает после ишемического поражения мозга, а для препаратов с ГАМК-ергическим механизмом действия характерно усиление сосудорасширяющей активности в условиях ишемии мозга [11].

Поэтому следующая серия опытов была посвящена изучению влияния гимантана на локальный мозговой кровоток в коре головного мозга крыс после глобальной преходящей ишемии на фоне действия блокатора ГАМК_A-рецепторов бикукуллина. Опыты показали, что в этих условиях под влиянием гимантана наблюдается лишь первоначальное увеличение кровотока в течение 20 мин на 20 % (в контроле 32 %), а далее мозговой кровоток в коре мозга крыс снижается ниже исходного уровня ($p \leq 0,05$) (рис. 2). Уровень артериального давления в этих экспериментах сразу после введения гимантана повышается в течение 10 – 20 мин, а затем возвращается к исходному значению. Следует отметить, что увеличение мозгового кровотока у крыс в условиях ишемического поражения мозга под действием гимантана отмечается в течение всего опыта (90 мин). Таким образом, можно предположить, что цереброваскулярный эффект гимантана, в основном, связан с ГАМК-ергическими механизмами регуляции тонуса сосудов мозга, так как на фоне действия бикукуллина сосудорасширяющая активность гимантана существенно ослабляется. Полученные данные еще раз подтверждают гипотезу о том, что система ГАМК играет важную роль в регуляции тонуса сосудов ишемизированного мозга.

Таким образом, увеличение локального мозгового кровотока под влиянием гимантана, не связано с его

воздействием на дофаминергические системы мозга и сосудов, а, в основном, обусловлено его влиянием на ГАМК-ергические механизмы регуляции тонуса сосудов мозга.

ВЫВОДЫ

1. Гимантан в дозе 10 мг/кг вызывает длительное увеличение локального мозгового кровотока у крыс, подвергнутых глобальной преходящей ишемии (90 мин), тогда как цереброваскулярная активность препарата у интактных крыс проявляется в течение 20 мин.

2. Анализ цереброваскулярного эффекта гимантана с использованием галоперидола и биккуллина показал, что увеличение кровотока ишемизированного мозга, в основном, обусловлено влиянием препарата на ГАМК-ергические механизмы регуляции тонуса сосудов мозга, а не воздействием на дофаминергические процессы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. А. Вальдман, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **63**(5), 3 – 6 (2000).

2. Е. А. Вальдман, Т. А. Воронина, Л. Н. Аксенова и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **66**(5), 3 – 5 (2003).
3. Т. А. Воронина, И. Г. Капица, Г. И. Ковалёв, И. А. Зимин, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **73**(11), 2 – 5 (2010).
4. М. В. Елшанская, А. И. Соболевский, Е. А. Вальдман, Б. И. Ходоров, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **64**(1), 18 – 21 (2001).
5. Е. А. Катунина, А. В. Петрухова, Г. Н. Авакян и др., *Журн. неврол. и психиатр.*, **108**(6), 24 – 27 (2008).
6. Г. И. Ковалёв, Д. А. Абаймов, М. В. Воронин и др., *Нейрохимия*, **24**(2), 150 – 156 (2007).
7. С. О. Котельникова, А. В. Непоклонов, И. И. Кокшенов и др., *Журн. неврол. и психиатр.*, **112**(9), 63 – 66 (2012).
8. Р. С. Мирзоян, М. Б. Плотноков, Т. С. Ганьшина и др., *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, А. Н. Миронов (ред.), часть первая, Москва (2012), сс. 480 – 487.
9. А. В. Топчян, М. Г. Баласанян, Т. С. Ганьшина, Р. С. Мирзоян, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **62**(6), 29 – 31 (1999).
10. G. Bustos, J. Abarca, M. I. Forray, et al., *Brain Res.*, **585**, 105 – 115 (1992).
11. R. S. Mirzoyan, T. S. Gan'shina, D. V. Maslennikov, et al., *BioMed. Res. Int.*, Vol. 2014 (2014), Article ID 586501, 8 pages; [http:// dx.doi.org / 10.1155 / 2014 / 586501](http://dx.doi.org/10.1155/2014/586501).

Поступила 17.03.15

ANALYSIS OF THE MECHANISM OF CEREBROVASCULAR ACTION OF GIMANTAN

T. S. Gans'hina, E. V. Kurza, D. V. Maslennikov, I. N. Kurdyumov, A. V. Gnezdilova, 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 influence of antiparkinsonian drug gimantan on cerebral blood flow was evaluated during the experiments on inbred intact rats and rats with cerebral ischemia model. Gimantan (10 mg/kg) induces a long-term increase (up to 30 – 40% for 90 min) in local cerebral blood flow in rats after global transient ischemia, while the cerebrovascular activity of the drug in the experiments on intact rats lasted for 20 min. The analysis of the cerebrovascular effect of gimantan used in combination with haloperidol and bicuculline showed that the increase of cerebral blood flow under conditions of ischemia is mostly related to the drug influence on GABA-ergic mechanisms of vascular tone regulation, since bicuculline substantially reduces the vasodilatory effect of the drug, while D-receptor antagonist haloperidol does not affect this action of gimantan.

Keywords: gimantan; Parkinson's disease; cerebral blood flow; global transient cerebral ischemia; haloperidol; bicuculline; rats.