

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ ТРОПОКСИНА НА СОДЕРЖАНИЕ МОНОАМИНОВ И ИХ МЕТАБОЛИТОВ В СТРУКТУРАХ МОЗГА КРЫС ВИСТАР

П. Л. Наплёкова¹, С. В. Шевченко, В. Б. Наркевич, Т. С. Ганьшина, Л. М. Косточка, Р. С. Мирзоян, В. С. Кудрин, Т. А. Воронина

Изучены эффекты противомигренозного препарата тропоксин на содержание моноаминов и их метаболитов во фронтальной коре (ФК), гипоталамусе, прилежащем ядре (ПЯ), стриатуме и гиппокампе мозга крыс Вистар методом ВЭЖХ. Показано, что содержание дофамина во ФК и норадреналина в ПЯ снижалось на 30 % при введении препарата в дозе 10 мг/кг ($p \leq 0,05$), тогда как в гипоталамусе возрастали концентрации метаболитов ДА — гомованилиновой (ГВК) и диоксифенилуксусной (ДОФУК) кислот. Обнаружено, что тропоксин в дозе 20 мг/кг вызывал увеличение содержания метаболита серотонина 5-оксииндолуксусной кислоты в ПЯ, а также ГВК в гипоталамусе. Результаты экспериментов свидетельствуют о преимущественном влиянии тропоксина на активность дофаминергической системы по сравнению с серотонинергической.

Ключевые слова: тропоксин; мигрень; серотонин; дофамин; ВЭЖХ; структуры мозга.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время для медикаментозной терапии мигрени используются многочисленные лекарственные средства различных классов. Однако наибольшее распространение для лечения больных мигренью получили препараты, воздействующие на рецепторы серотонина, что указывает на важную роль серотонинергической системы в патогенезе мигрени [6, 13, 11]. Для купирования приступа мигрени применяются селективные агонисты 5-ОТ_{1B/1D/1F}-рецепторов (суматриптан, золмитриптан, наратриптан и др.), тогда как в качестве профилактического лечения больных мигренью назначают блокаторы 5-ОТ_{2A/2B/2C}-рецепторов (метисергид, пизотифен, ципрогептадин и др.). Последние, наряду с блокадой соответствующих рецепторов по принципу обратной связи, вызывают снижение продукции нейромедиатора и устранение сосудосуживающих эффектов серотонина.

В ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова” среди производных тропана создан препарат тропоксин(3-(3,4,5-триметоксибензоилоксиимино)-8-метил-8-азабицикло[3,2,1]октана гидрохлорид), обладающий значительным противомигренозным потенциалом. Исследования с использованием техники микроионофореза и радиолигандного связывания показали, что тропоксин обладает аффинностью к серотониновым рецепторам семейства 5-ОТ₂ [1, 2]. Однако изучение эффектов тропоксина на активность других

нейромедиаторных систем мозга до настоящего времени не проводилось.

В связи с вышеизложенным целью данной работы являлось изучение влияния тропоксина на содержание моноаминов и их метаболитов в различных структурах мозга крыс Вистар методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией (ВЭЖХ/ЭД).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены на 30 крысах линии Вистар массой 200–240 г (питомник “Столбовая”), содержащихся в условиях лабораторного вивария при 12-часовом световом режиме со свободным доступом к воде и стандартному корму. Для исключения влияния суточных биоритмов на скорость биосинтеза и метаболизма нейромедиаторов эксперименты проводились между 10.00 и 12.00 ч дня. Эксперименты проводились с соблюдением этических правил гуманного обращения с животными, утвержденными этической комиссией ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова”.

Животные были разделены на следующие экспериментальные группы: 1 группа — контроль (0,9 % NaCl); 2 группа — тропоксин (10 мг/кг); 3 группа — тропоксин (20 мг/кг). Каждая экспериментальная группа состояла из 10 животных.

Декапитацию животных осуществляли через 30 мин после инъекции тропоксина или 0,9 % NaCl. Структуры мозга (фронтальная кора (ФК), гипоталамус, прилежащее ядро (ПЯ), стриатум и гиппокамп) извлекали на льду, замораживали в жидком азоте и взвешивали. Перед экспериментами по определению

¹ ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова”, Россия 125315, Москва, Балтийская ул., 8; e-mail: p.napleкова@gmail.com.

содержания нейротрансмиттеров пробы размельчали в ручном гомогенизаторе (тефлон – стекло) в 20 объемах 0,1 н. HClO₄ с добавлением 3,4-диоксибензиламина (0,5 нмоль/мл) в качестве внутреннего стандарта. Пробы центрифугировали при 10 000 g в течение 10 мин. Содержание моноаминов и их метаболитов определяли методом ВЭЖХ/ЭД на хроматографе LC-304T (BAS, West Lafayette, США) с аналитической колонкой ReproSil-Pur ODS (C18, 100 · 4 мм, 3,3 мкм) (Dr. Maisch, Германия) [4]. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 приведены величины параметров содержания нейромедиаторов и их метаболитов в структурах мозга крыс Вистар контрольной группы. Показано, что тропоксин вызывает достоверные изменения этих показателей (табл. 2). Так, при введении указанного соединения в дозе 10 мг/кг наблюдалось снижение уровней дофамина (ДА) во фронтальной коре на 32 % и норадреналина (НА) в ПЯ на 35 % по отношению к аналогичным показателям контрольной группы. Отмечено значительное увеличение в гипоталамусе концентраций метаболитов ДА: гомованилиновой (ГВК) и диоксифенилуксусной (ДОФУК) кислот на 75 и 20 %, соответственно. В гиппокампе комплексный показатель, характеризующий скорость превращения серотонина (5-ОТ) в метаболит 5-оксииндолуксусную кислоту (5-ОИУК), 5-ОИУК/5-ОТ, незначительно, но достоверно возрастал на 15 %.

Введение тропоксина в дозе 20 мг/кг приводило к увеличению уровней 5-ОИУК в ПЯ на 20 % и ГВК в гипоталамусе на 55 % ($p \leq 0,05$). В стриатуме наблюдалось снижение концентрации другого продукта утили-

зации ДА — 3-метокситирамина (3-МТ) на 25 % ($p \leq 0,05$).

Полученные нами данные свидетельствуют об избирательности действия тропоксина в отношении различных структур мозга. Так, если одновременное увеличение концентраций метаболитов ДА ГВК и ДОФУК может свидетельствовать об усилении метаболизма этого нейромедиатора в гипоталамусе при отсутствии изменений уровня самого ДА, то снижение содержания указанного катехоламина в ФК говорит об уменьшении его синтеза при неизменной скорости утилизации. Известно, что введение селективных антагонистов 5-ОТ_{2c} — рецепторов SB 206553 и SB 242084 — вызывает значительное увеличение высвобождения ДА в стриатуме и ПЯ (т.е. в структурах, относящихся к разным дофаминергическим системам-мезолимбической и нигростриатной) [7]. Агонист указанного подтипа 5-ОТ рецепторов Ro-60-0175 устраняет данное увеличение. Принимая во внимание, что, как было показано ранее, тропоксин обладает аффинностью к серотониновым рецепторам семейства 5-HT₂ [1, 2], полученные нами данные могут говорить об участии этого подтипа рецепторов (5-ОТ_{2c}) в реализации эффектов изучаемого вещества на активность дофаминергической системы.

Снижение уровня НА через 30 мин после введения тропоксина может являться следствием активирующего влияния тропоксина на выброс НА в синаптическую щель, что может, в свою очередь, отразиться на уровне конечных продуктов метаболизма.

Обращает на себя внимание отсутствие влияния тропоксина на содержание серотонина и его метаболита 5-ОИУК. В то же время ранее нами было показано практически полное отсутствие эффектов специфического антагониста рецепторов 5-ОТ_{2b/2c} подтипа SB-200646A на нейрохимические параметры активно-

Таблица 1. Содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга интактных крыс линии Вистар (нмоль/г ткани)

НА	ДА	ДОФУК	ГВК	3-МТ	5-ОТ	5-ОИУК	ДОФУК/ДА	ГВК/ДА	5-ОИУК/ 5-ОТ
Гипоталамус									
3,875 ± 0,712	1,254 ± 0,373	0,246 ± 0,032	0,058 ± 0,011	0,012 ± 0,009	4,333 ± 0,332	4,514 ± 0,274	0,205 ± 0,041	0,049 ± 0,013	1,049 ± 0,118
Гиппокамп									
1,175 ± 0,172	0,116 ± 0,049	0,081 ± 0,021	0,042 ± 0,019	0,040 ± 0,023	2,152 ± 0,288	3,653 ± 0,433	0,751 ± 0,221	0,402 ± 0,256	1,706 ± 0,158
Фронтальная кора									
1,005 ± 0,260	0,403 ± 0,107	0,119 ± 0,048	0,149 ± 0,042	0,044 ± 0,018	2,856 ± 0,439	2,211 ± 0,322	0,310 ± 0,151	0,401 ± 0,176	0,778 ± 0,081
Прилежащее ядро									
1,809 ± 1,109	33,631 ± 4,232	3,978 ± 0,610	1,651 ± 0,379	0,152 ± 0,047	5,252 ± 0,901	5,998 ± 0,952	0,118 ± 0,009	0,049 ± 0,010	1,159 ± 0,176
Стриатум									
0,255 ± 0,051	46,941 ± 9,255	4,066 ± 1,028	2,753 ± 0,553	0,260 ± 0,067	3,418 ± 0,420	6,408 ± 0,687	0,086 ± 0,010	0,059 ± 0,007	1,880 ± 0,118

Примечание: Приведены средние значения и стандартные ошибки ($M \pm s.e.m.$).

Таблица 2. Влияние тропоксина на содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга крыс линии Вистар (%)

Доза тропоксина, мг/кг	НА	ДА	ДОФУК	ГВК	3-МТ	5-ОТ	5-ОИУК	ДОФУК/ДА	ГВК/ДА	5-ОИУК/5-ОТ
Гипоталамус										
10	105,98 ± 11,90	151,06 ± 60,69	120,26 ± 20,43*	175,51 ± 75,02*	68,23 ± 28,74	98,49 ± 11,19	106,12 ± 15,96	82,08 ± 19,05	111,10 ± 25,23	107,02 ± 10,37
20	102,79 ± 12,16	123,70 ± 62,71	111,35 ± 23,14	154,57 ± 58,76*	78,55 ± 51,83	106,87 ± 12,96	106,09 ± 13,02	94,08 ± 22,85	126,13 ± 42,64	99,35 ± 12,93
Гиппокамп										
10	104,02 ± 14,25	98,60 ± 41,93	110,55 ± 60,42	-	-	93,90 ± 14,21	108,08 ± 15,36	116,63 ± 60,17	-	114,96 ± 9,75*
20	96,24 ± 10,52	116,94 ± 79,74	109,33 ± 77,17	-	-	98,89 ± 19,86	102,98 ± 16,98	100,54 ± 45,36	-	105,65 ± 17,80
Фронтальная кора										
10	82,91 ± 7,47	68,73 ± 9,14*	102,12 ± 36,82	-	-	93,73 ± 12,26	94,99 ± 22,27	146,72 ± 66,88	-	100,58 ± 19,50
20	89,22 ± 12,81	96,58 ± 32,73	86,42 ± 34,22	-	-	102,92 ± 14,93	96,58 ± 18,71	93,83 ± 37,83	-	95,37 ± 24,47
Прилежащее ядро										
10	64,27 ± 25,43*	81,78 ± 21,35	88,12 ± 20,74	95,96 ± 36,08	122,37 ± 49,41	83,49 ± 35,21	94,27 ± 31,88	110,55 ± 15,58	176,08 ± 28,33	115,62 ± 20,61
20	108,83 ± 48,56	94,24 ± 13,73	95,61 ± 12,00	98,76 ± 25,25	132,72 ± 57,07	109,44 ± 17,68	119,05 ± 14,35*	102,18 ± 7,77	104,73 ± 17,72	108,52 ± 18,67
Стриатум										
10	109,60 ± 24,43	87,65 ± 14,04	92,39 ± 19,33	96,70 ± 23,99	84,51 ± 18,46	90,43 ± 14,95	93,87 ± 18,20	105,32 ± 8,28	109,74 ± 20,74	104,13 ± 18,55
20	108,86 ± 47,05	101,09 ± 16,60	100,16 ± 17,54	111,39 ± 24,94	76,77 ± 16,47*	104,05 ± 6,91	103,13 ± 15,18	99,47 ± 8,79	109,91 ± 20,28	98,79 ± 12,99

Примечание: Приведены средние значения и стандартные ошибки (% по отношению к контролю, $M \pm s.e.m.$). Достоверность различий по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

сти серотонинергической системы в структурах мозга мышей C57Bl и BALB/C, отличающихся различной эмоциональной реакцией на стресс [3]. Эти факты могут являться косвенным подтверждением участия рецепторов указанного подтипа в механизме действия тропоксина.

Интересно отметить, что имеется целый ряд работ, свидетельствующих о том, что антагонисты рецепторов 5-ОТ₂ подтипа обладают анксиолитическими свойствами [5]. Принято считать, что уменьшение содержания 5-ОТ в структурах мозга вызывает снижение степени тревожности [10]. Показано, что антагонист 5-ОТ_{2a} ритансерин на ряде поведенческих моделей проявляет анксиолитическую активность [9, 12]. Сходным образом блокада рецепторов 5-ОТ_{2b/2c} подтипа с помощью антагониста данного подтипа рецепторов SB-200646 приводит к развитию противотревожных эффектов и предотвращает эмоциональную тревожную реакцию, вызванную введением агониста этого подтипа рецепторов метилхлорфенилпиперазина (m-CPP) [8]. Исходя из этих данных, представляется перспективным углубленное изучение анксиолитических свойств тропоксина.

Таким образом, результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о преимущественном влиянии тропоксина на активность дофаминергической

системы мозга при менее выраженном воздействии на скорость метаболизма серотонина.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что содержание ДА во фронтальной коре и норадреналина в ПЯ снижается на 30 % через 30 мин после введения тропоксина в дозе 10 мг/кг ($p < 0,05$), тогда как в гипоталамусе концентрации метаболитов ДА — ГВК и ДОФУК — кислот возрастают.

2. Тропоксин в дозе 20 мг/кг вызывает увеличение содержания метаболита серотонина 5-оксииндолуксусной кислоты в ПЯ, а также ГВК в гипоталамусе. В стриатуме наблюдается снижение концентрации продукта утилизации ДА — 3-МТ — на 25 % ($p \leq 0,05$).

3. Результаты экспериментов свидетельствуют о преимущественном влиянии тропоксина на активность дофаминергической системы мозга по сравнению с влиянием на содержание и скорость метаболизма серотонина.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. Н. Кожечкин, Л. М. Косточка, С. Г. Бежанян и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **68**(4), 3 – 6 (2005).
2. Р. С. Мирзоян, С. Б. Середенин, Т. С. Ганьшина и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **61**(2), 28 – 31 (1998).

3. К. С. Раевский, В. Б. Наркевич, П. М. Клодт, *Бюл. эксперим. биол. мед.*, **153**(5), 649 – 652 (2012).
4. К. С. Раевский, В. Б. Наркевич, П. М. Клодт, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **74**(12), 3 – 7 (2011).
5. S. P. H. Alexander, A. Mathie, J. A. Peters, *Br. J. Pharmacol.*, **164**(1), 16 – 19 (2011).
6. W. J. Becker, *Headache*, **55**(6), 778 – 793 (2015).
7. P. De Deurwaerdère, S. Navailles, K. A. Berg, *J. Neurosci.*, **24**(13), 3235 – 3241 (2004).
8. M. S. Duxon, G. A. Kennett, S. Lightowler, et al., *Neuropharmacol.*, **36**, 601 – 608 (1997).
9. G. A. Kennett, M. D. Wood, A. Glen, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **111**, 797 – 802 (1994).
10. J. Kent, S. Mathew, J. Gorman, *Biol. Psychiat.*, **52**, 1008 – 1030 (2002).
11. S. Mehrotra, S. Gupta, K. Y. Chan, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **378**(4), 371 – 394 (2008).
12. V. Nunes-de-Souza, R. L. Nunes-de-Souza, R. J. Rodgers, and A. Canto-de-Souza, *Behav. Brain Res.*, **187**, 72 – 79 (2008).
13. N. M. Ramadan, *Headache*, **47**(1), 52 – 57 (2007).

Поступила 15.09.15

NEUROCHEMICAL STUDY OF TROPOXIN EFFECTS ON THE CONTENT OF MONOAMINES AND ITS METABOLITES IN WISTAR RAT BRAIN STRUCTURES

P. L. Naplekova*, S. V. Shevchenko, V. B. Narkevich, T. S. Gan'shina, L. M. Kostochka, R. S. Mirzoyan, V. S. Kudrin, and T. A. Voronina

Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315 Moscow; * e-mail: p.naplekova@gmail.com

The influence of perspective anti-migraine drug tropoxin on the content of monoamines and related metabolites in Wistar rat brain structures, including frontal cortex (FC), hypothalamus, nucleus accumbens (NA), striatum, and hippocampus, has been studied using HPLC/ED technique. Tropoxin (10 mg/kg) induced a 30% decrease ($p < 0.05$) in dopamine (DA) level in FC as well as norepinephrine content in NA, while the concentrations of DA metabolites DOPAC and HVA in the hypothalamus were found to increase. The injection of tropoxin in a dose of 20 mg/kg led to an increase in HVA level in hypothalamus as well as serotonin metabolite 5-HIAA content in NA. The obtained data provide evidence that tropoxin predominantly influenced the activity of dopaminergic system while the drug effects on the parameters of serotonergic link seem to be rather mild.

Keywords: tropoxin; migraine; serotonin; dopamine; HPLC; brain structures; Wistar rats.