

# ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

## ОСОБЕННОСТИ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНОГО ЭФФЕКТА ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Т. С. Ганьшина, Е. В. Курза, И. Н. Курдюмов,  
Д. В. Масленников, Р. С. Мирзоян<sup>1</sup>

В опытах на нелинейных, подвергнутых глобальной преходящей ишемии мозга крысах выявлена способность глутаминовой кислоты улучшать мозговое кровообращение. Следовательно, возбуждающая аминокислота при ишемии мозга обладает как негативным (нейротоксическим), так и позитивным (противоишемическим) действием. Цереброваскулярный эффект глутаминовой кислоты при ишемии мозга ослабляется на фоне действия блокатора NMDA-рецепторов МК-801 (0,5 мг/кг внутривенно) и устраняется бикикуллином. При сочетанном применении неконкурентного антагониста NMDA-рецепторов МК-801 и глутаминовой кислоты сосудорасширяющий эффект ни того, ни другого не проявляется. Результаты проведенного исследования указывают на взаимодействие между возбуждающими и тормозными системами на уровне мозговых сосудов и еще раз подтверждают высказанное нами положение о решающей роли ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов сосудов мозга в реализации противоишемического действия как эндогенных веществ (мелатонин), так и лекарственных препаратов (мексидол, афобазол) и новых химических соединений (ГАМК-содержащие производные липидов).

**Ключевые слова:** глутаминовая кислота; локальный мозговой кровоток; глобальная преходящая ишемия мозга; МК-801; бикикуллин; ГАМК<sub>A</sub>-рецепторы сосудов мозга; крысы.

## ВВЕДЕНИЕ

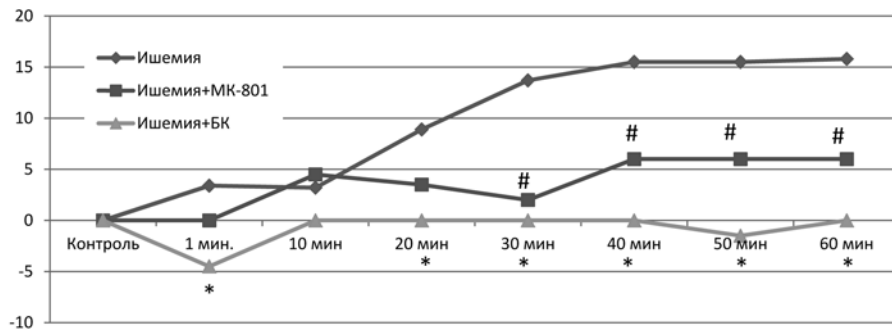
Ишемические поражения мозга занимают значительный удельный вес в структуре сосудистых заболеваний центральной нервной системы [10]. Этим определяется необходимость восстановления нарушенного кровообращения в пораженных зонах мозга с целью нормализации его деятельности.

Вместе с тем при ишемии выявлены нарушения баланса между возбуждающими и тормозными процессами в центральной нервной системе, а также активация каскада глутамат-кальциевых процессов, приводящих к необратимым повреждениям нервной ткани [16, 17]. Поэтому, наряду с восстановлением кровоснабжения мозга, патогенетически обоснованными путями фармакологической коррекции этих состояний являются либо блокада глутаматных рецепторов, либо усиление ГАМК-ергических воздействий. Для угнетения глутамат-кальциевых процессов был синтезирован и изучен неконкурентный антагонист NMDA-рецепторов МК-801 (дизоцилпин), который в эксперименте продемонстрировал выраженную нейропротекторную активность. Однако ввиду серьезных побочных эффектов соединение не получило применения в клинической практике. Поиски препаратов в этом направлении продолжаются. Вместе с тем в оте-

чественной неврологической практике получили широкое распространение препараты с ГАМК-ергическим компонентом в механизме их действия. Это пикамилон, цереброваскулярный эффект которого блокируется антагонистом ионных каналов ГАМК<sub>A</sub>-рецептора пикротоксином [7], и антиоксидант мексидол [2], в реализации противоишемического действия которого принимают участие ГАМК-ергические структуры сосудов мозга.

Как было упомянуто выше, наиболее эффективным способом защиты поврежденной ткани мозга является восстановление в этой области кровообращения. Об этом свидетельствует клиническая эффективность в остром периоде ишемического инсульта тромболитических препаратов [13]. Поэтому крайне важны сведения о цереброваскулярной активности нейромедиаторных аминокислот, участие которых в регуляции мозгового кровообращения и в патогенезе цереброваскулярных расстройств не вызывает сомнений. Тормозная аминокислота ГАМК оказывает сосудорасширяющее действие [6]. Доказана роль этой аминокислоты в реализации противоишемической активности большого числа препаратов и новых химических соединений [3, 4, 15]. Что касается возбуждающей глутаминовой кислоты, то её роль при ишемическом поражении мозга в реализации нейротоксического действия убедительно продемонстрирована [12]. Имеются также сообщения о способности глутамата [11] и NMDA [8, 9, 11,

<sup>1</sup> ФБГУ «НИИ фармакологии им. В. В. Закусова» РАМН, Россия, 125315, Москва, Балтийская ул., 8.



Влияние глутаминовой кислоты (50 мг/кг внутривенно) на локальный мозговой кровоток наркотизированных крыс в условиях глобальной преходящей ишемии (Ишемия), на фоне действия МК-801 (Ишемия + МК-801) и на фоне действия бикикуллина (Ишемия + БК).

По оси ординат – изменения локального мозгового кровотока, % к исходному уровню; по оси абсцисс – время, мин;

\*  $p < 0,05$  – бикикуллин + глутаминовая кислота по сравнению с глутаминовой кислотой;

#  $p < 0,05$  – МК-801 + глутаминовая кислота по сравнению с глутаминовой кислотой.

14] вызывать расширение пиальных артериол при непосредственной аппликации веществ на кору большого мозга, реализуемое по данным одних исследователей через аденозиновые рецепторы [8, 11], а других – через систему оксида азота [9, 14]. Однако мы не обнаружили сведений о влиянии этой аминокислоты на кровоснабжение мозга, подвергнутого ишемическому воздействию.

В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение влияния глутаминовой кислоты на мозговое кровообращение крыс, подвергнутых глобальной преходящей ишемии мозга, и выяснение механизма его цереброваскулярного эффекта.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 28 наркотизированных (хлоралгидрат 350 – 400 мг/кг внутривенно) нелинейных крысах-самцах массой 250 – 300 г (питомник “Столбовая”), содержащихся в условиях лабораторного вивария при 12-часовом световом режиме со свободным доступом к воде и стандартному корму. Опыты проводились в соответствии с методическими рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств для лечения нарушений мозгового кровообращения и мигрени [5]. 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 – введение глутаминовой кислоты через 30 мин после ишемии с реперфузией ( $n = 10$ ); 2 группа – введение глутаминовой кислоты через 30 мин после ишемии с реперфузией и спустя 20 мин после инъекции МК-801 ( $n = 8$ ); 3 группа – изучение глутаминовой кислоты через 30 мин после ишемии с реперфузией и спустя 20 мин после инъекции бикикуллина ( $n = 10$ ).

Состояние мозгового кровообращения у животных оценивали с помощью методики лазерной доплеров-

ской флоуметрии. Для регистрации локального мозгового кровотока в теменной области коры головного мозга крыс использовали флоуметр ALF-21 фирмы “Transonic System Inc.” (США). Игольчатый датчик 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. 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 [5].

Исследуемые вещества – L-глутаминовую кислоту (50 мг/кг) фирмы Sigma-Aldrich, МК-801 (0,5 мг/кг) фирмы Tocris Biocienes, UK, бикикуллин (0,5 мг/кг) фирмы “Serva” – в виде водных растворов вводили через полиэтиленовый катетер в бедренную вену животных.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistika 8.0 (Statistika Inc., США). Нормальность распределения данных оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка. Для дальнейшей обработки данных использовали непараметрический двухвыборочный знакоранговый критерий Вилкоксона. Результаты рассматривали как значимые при  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные опыты позволили установить, что в течение первых 10 мин после введения глутаминовой кислоты (50 мг/кг внутривенно) крысам, подвергнутым глобальной преходящей ишемии, локальный кровоток в коре большого мозга начинает возрастать и к 40 мин увеличение составляет 15,5 % от исходного

уровня (рисунок). Уровень артериального давления под влиянием глутаминовой кислоты в указанные интервалы времени не изменялся. Полученные данные свидетельствуют о том, что цереброваскулярный эффект глутаминовой кислоты, в основном, обусловлен непосредственным влиянием препарата на тонус сосудов мозга. Следовательно, глутаминовая кислота, наряду с известным негативным нейротоксическим эффектом, обладает также способностью понижать тонус сосудов мозга в условиях ишемии и, тем самым, оказывать защитное противоишемическое действие.

Представлялось важным выяснить механизм цереброваскулярной активности глутаминовой кислоты в условиях ишемии мозга. Можно допустить, что обнаруженный эффект аминокислоты обусловлен его взаимодействием с одноименными рецепторами. Поэтому следующая серия опытов была посвящена изучению влияния глутаминовой кислоты на мозговое кровообращение в условиях ишемии мозга и на фоне предварительного введения блокатора NMDA-рецепторов МК-801. Для этой цели через 30 мин после глобальной преходящей ишемии мозга крысам вводили МК-801 в дозе 0,5 мг/кг внутривенно, а через 20 мин после этого изучали влияние глутаминовой кислоты в той же дозе и при том же способе введения. Эксперименты показали, что цереброваскулярный эффект аминокислоты в этих условиях в значительной степени ослабевал. Так, через 10 мин после введения глутаминовой кислоты локальный мозговой кровоток возрастал всего на 4,5 %, а на 40 – 60 минутах на 6 %. Разница с контролем статистически значима ( $p < 0,05$ , рисунок). Артериальное давление в этих условиях не претерпевало существенных изменений. Полученные данные указывают на то, что в реализации цереброваскулярного эффекта глутаминовой кислоты принимают участие одноименные рецепторы.

Вместе с тем, как мы уже упоминали, ГАМК<sub>A</sub>-рецепторы играют важную роль в регуляции тонуса сосудов мозга в условиях его ишемического поражения [3, 4, 15]. Поэтому третья серия опытов была посвящена изучению влияния глутаминовой кислоты на локальный мозговой кровоток при ишемическом поражении мозга на фоне действия блокатора ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов бикикуллина. В этих условиях глутаминовая кислота не оказывала сосудорасширяющего действия, наблюдаемого у крыс, подвергнутых ишемическому воздействию ( $p < 0,05$ , рисунок). Артериальное давление в этой серии экспериментов не отличалось от показателей крыс контрольной группы. Следовательно, блокада ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов сосудов мозга устраняет цереброваскулярный эффект глутаминовой кислоты.

Ослабление положительного влияния глутаминовой кислоты на мозговое кровообращение при ишемии мозга на фоне действия МК-801 и его устранение при применении бикикуллина указывает на участие в этом процессе как собственно глутаматных рецепторов, в

частности MNDA-рецепторов, так и ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов сосудов мозга.

Важно также отметить, что антагонист MNDA-рецепторов МК-801, как ранее мы установили, вызывает медленно развивающееся (в течение 40 – 50 мин) увеличение локального кровотока в условиях глобальной преходящей ишемии головного мозга на 26 %, и этот эффект устраняется или ослабляется блокатором ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов бикикуллином. Это указывает на ГАМК-ергический механизм цереброваскулярного эффекта МК-801 [1]. Следовательно, при раздельном применении в условиях ишемии глутаминовая кислота и МК-801 увеличивают локальный мозговой кровоток, соответственно на 15,5 и 26 %, а бикикуллин в обоих случаях блокирует этот эффект. При сочетанном применении МК-801 и глутаминовой кислоты цереброваскулярные эффекты как глутаминовой кислоты, так и неконкурентного антагониста MNDA-рецепторов не проявляются.

Что лежит в основе такой блокады сосудорасширяющих эффектов исследованных веществ? Если допустить, что в результате угнетения NMDA рецепторов наблюдается компенсаторная активация тормозной системы, основной медиатор которой ГАМК вызывает расширение сосудов мозга, то в наших опытах наряду с МК-801 мы вводили крысам глутаминовую кислоту и тем самым компенсировали недостаток возбуждающего нейромедиатора. В этом случае активации системы ГАМК не происходит и поэтому отсутствует расширение сосудов мозга, что согласуется с гипотезой о ведущей роли в сосудорасширяющем эффекте ГАМК.

Полученные данные указывают на способность глутаминовой кислоты улучшать мозговое кровообращение в условиях ишемии. Следовательно, возбуждающая аминокислота при ишемии мозга обладает как негативным, так и позитивным действием. Если первое известно как нейротоксическое, то второе – это улучшение кровоснабжения ишемизированной области мозга, т.е. противоишемическое действие. Проведенное исследование указывает на участие в противоишемическом эффекте глутаминовой кислоты системы ГАМК сосудов мозга. Таким образом, с одной стороны, выявлено взаимодействие возбуждающей и тормозной систем мозга на уровне регуляции церебральных сосудов и, во-вторых, еще раз подтверждается высказанное нами положение о решающей роли ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов сосудов мозга в реализации сосудорасширяющего действия лекарственных препаратов и новых химических соединений (мелатонина, мексидола, афобазола и ГАМК-содержащих производных липидов).

## ВЫВОДЫ

1. Глутаминовая кислота (50 мг/кг внутривенно) усиливает на 15,5 % локальный мозговой кровоток в

коре мозга наркотизированных крыс в условиях глобальной преходящей ишемии.

2. Цереброваскулярный эффект глутаминовой кислоты при ишемии мозга ослабляется ( $p < 0,05$ ) на фоне действия блокатора MNDA-рецепторов МК-801 (0,5 мг/кг внутривенно).

3. Блокатор ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов бичукуллин (0,5 мг/кг внутривенно) устраняет сосудорасширяющий эффект глутаминовой кислоты у крыс, подвергнутых глобальной преходящей ишемии мозга.

4. При сочетанном применении неконкурентного антагониста MNDA-рецепторов МК-801 (0,5 мг/кг) и глутаминовой кислоты (50 мг/кг внутривенно) сосудорасширяющий эффект как агониста, так и антагониста глутаматных рецепторов не проявляется.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Т. С. Ганьшина, А. В. Гнездилова, Е. В. Курза и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **77**(6), 8 – 12 (2014).
2. А. В. Гнездилова, Т. С. Ганьшина, Р. С. Мирзоян, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **73**(10), 11 – 13 (2010).
3. Р. С. Мирзоян, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **66**(2), 53 – 56 (2003).
4. Р. С. Мирзоян, Т. С. Ганьшина, Н. А. Хайлов и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **77**(3), 3 – 8 (2014).
5. Р. С. Мирзоян, М. Б. Плотников, Т. С. Ганьшина и др., *Методические рекомендации по доклиническому изучению ле-*

*карственных средств для лечения нарушений мозгового кровообращения и мигрени. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, Часть первая*, Гриф и К, Москва (2012), сс. 480 – 487.

6. С. А. Мирзоян, В. П. Аюбян, *Фармакол. и токсикол.*, **30**(5), 572 – 574 (1967).
7. И. В. Силкина, Т. С. Ганьшина, С. Б. Середенин, Р. С. Мирзоян, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **68**(1), 20 – 24 (2005).
8. F. Bari, C. R. Thore, T. M. Louis and D. W. Busija, *Brain Res.*, **780**, 237 – 244 (1998).
9. F. M. Faraci, J. E. Jr. Brian, *Circ. Res.*, **72**, 476 – 480 (1993).
10. A. S. Go, D. Mozaffarian, V. L. Roger, et al., *Circulation*, **129**:e28-e292; doi: 10.1161 / 01.cir.0000441139.02102.80 (2014).
11. J. J. Iliff, R. D'Ambrosio, A. C. Ngaiand, N. R. Winn, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **284**, H1631-H1637 (2003).
12. T. W. Lai, Sh. Zhang, Y. T. Wang, *Progress Neurobiol.*, **115**, 157 – 188 (2014).
13. J. V. Ly, J. A. Zavala, G. A. Donnan, *Expert Opinion Pharmacother.*, **7**(12), 1571 – 1581 (2006).
14. W. Meng, J. R. Tobin and D. W. Busija, *Stroke*, **26**, 857 – 863 (1995).
15. R. S. Mirzoyan, T. S. Gan'shina, D. V. Maslennikov, et al., *BioMed Res. Intern.l*, doi:10.1155 / 2014 / 586501 (2014).
16. D. G. Nicholls, *Biochim. Biophys. Acta*, **1787**, 1416 – 1424 (2009).
17. Q. Zhou, M. Sheng, *Neuropharmacology*, **74**, 69 – 75 (2013).

Поступила 05.01.16

## PECULIARITIES OF THE CEREBROVASCULAR EFFECTS OF GLUTAMIC ACID

T. S. Gan'shina, E. V. Kurza, I. N. Kurdyumov, D. V. Maslennikov, and R. S. Mirzoyan

V. V. Zakusov State Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315 Russia

Experiments on nonlinear rats subjected to global transient cerebral ischemia revealed the ability of glutamic acid to improve cerebral circulation. Consequently, the excitatory amino acid can produce adverse (neurotoxic) and positive (anti-ischemic) effects in cerebral ischemia. The cerebrovascular effect of glutamic acid in cerebral ischemia is attenuated on the background action of the MNDA receptor blocker MK-801 (0.5 mg/kg intravenously) and eliminated by bicuculline. When glutamic acid is combined with the non-competitive MNDA receptor antagonist MK-801, neither one nor another drug shows its vasodilator effect. The results are indicative of the interaction between excitatory and inhibitory systems on the level of cerebral vessels and once again confirm our previous conclusion about the decisive role of GABA<sub>A</sub> receptors in brain vessels in the implementation of anti-ischemic activity of endogenous compounds (melatonin) and well-known pharmacological substances (mexidol, afobazole), and new chemical compounds based on GABA-containing lipid derivatives.

**Keywords:** glutamic acid; local cerebral blood flow; global transient cerebral ischemia; MK-801; bicuculline; GABA<sub>A</sub> receptors; brain vessels; rats.