

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

УЧАСТИЕ ДОФАМИН- И СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКИХ СИСТЕМ МОЗГА В РЕАЛИЗАЦИИ ПСИХОФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ЛАДАСТЕНА И СИДНОКАРБА

И. А. Зимин¹, Д. А. Абаимов¹, Е. А. Будыгин¹, Ю. А. Золотарев², Г. И. Ковалев¹

Изучено влияние ладастена и сиднокарба на дофаминовые и серотониновые рецепторы, биосинтез и обратный захват дофамина (ДА) и серотонина (СТ). Обнаружено, что оба препарата не проявляют прямых эффектов в отношении дофаминовых рецепторов стриатума D₁-, D₂- и D₃-подтипов, а также серотониновых рецепторов 5-HT_{1A}- и 5-HT_{2A}-подтипов фронтальной коры крыс *in vitro*. Ладастен при однократном системном введении (50 мг/кг) оказывает выраженное стимулирующее действие *ex vivo* на биосинтез и высвобождение ДА в стриатуме, не оказывая влияния на образование СТ. Сиднокарб (17,5 мг/кг, внутривенно), напротив, снижает биосинтез СТ в ткани стриатума и коры и не влияет на синтез ДА. Ладастен и сиднокарб ингибируют *in vitro* систему активного транспорта дофамина с IC₅₀ = 3,56 мкМ и 28,66 нМ соответственно, однако, не влияют на обратный захват [³H]-СТ.

Ключевые слова: психостимуляторы, сиднокарб, ладастен, дофаминовые рецепторы, серотониновые рецепторы, моноамины, дофамин, серотонин, высвобождение дофамина, обратный захват, синапсомы, стриатум, фронтальная кора

ВВЕДЕНИЕ

Астеническое состояние — симптомокомплекс, характеризующийся снижением физической и умственной работоспособности и имеющий причинно-следственную связь со многими распространенными заболеваниями (синдром хронической усталости, синдром гиперутомляемости, некоторые формы шизофрении и депрессии) [11]. К числу амфетаминоподобных психостимуляторов, применяемых при лечении астенических расстройств, относится отечественный психостимулятор сиднокарб [7]. Сиднокарб вызывает локомоторную гиперактивность и стереотипическое поведение у крыс и мышей в резерпин-чувствительного типу [20], увеличивает экстраклеточное содержание дофамина в стриатуме [23], индуцирует образование *c-fos*-иммунореактивных нейронов [16].

Ладастен — оригинальное производное 2-аминоадамантана с широким профилем фармакологического действия, сочетающим анксиолитические и актопротекторные эффекты [10]. Ладастен увеличивает экспрессию генов, регулирующих биосинтез дофамина (ДА) [4], и снижает экспрессию гена, контролирующего синтез ГАМК- транспортера, осуществляющего обратный захват нейромедиатора [14], обладает мембраностабилизирующими, термопротекторными свойствами [5], увеличивает репродуктивную функцию

стрессированных крыс [13], обладает, как и ладастен, индивидуальной вариабельностью действия [8]. Показана высокая эффективность ладастена при психогенных астенических расстройствах в клинике [12].

Механизм действия психотропных веществ стимулирующего типа непосредственным образом связан с их способностью изменять состояние моноаминергической нейротрансдачи в мозге. В связи с этим целью данной работы стало выяснение роли дофамин- и серотонинергических систем в механизме действия сиднокарба, как препарата с узкой антиастенической направленностью, и ладастена, спектр фармакологических эффектов которого включает психостимулирующий компонент.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные. Исследования проводили на самцах крыс линии Вистар массой 180–220 г, которых содержали в виварии НИИ фармакологии РАМН в стандартных условиях со свободным доступом к воде и корму *ad libitum*, по 10 особей в клетке в течение 1-й недели до начала эксперимента, на стандартной диете при 12-часовом световом режиме.

Радиорецепторный анализ. Изучение радиолигандного связывания с D₁-, D₂- и D₃-рецепторами дофамина проводили по методу [22] с модификациями [1]. Изучение радиорецепторного связывания с рецепторами 5-HT_{1A} проводили по методу [21], с рецепторами 5-HT_{2A} по методу [18].

Изучение биосинтеза ДА и СТ. Влияние препаратов на биосинтез ДА и серотонина (СТ) в ткани стриатума и лобной коры большого мозга определяли методом

1 Лаборатория радиоизотопных методов исследований (зав. — проф. Г. И. Ковалев) НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.

2 Отдел химии физиологически активных веществ (зав. — акад. РАН Н. Ф. Мясоедов) Института молекулярной генетики РАН, Москва, 123182, пл. Курчатова, 2.

высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией (ВЭЖХ/ЭД) [2].

Изучение высвобождения ДА и ДОФУК. Для изучения высвобождения ДА и ДОФУК из изолированного стриатума крыс в условиях *ex vivo* использовали метод перфузии фрагментов по методу [17].

Изучение обратного захвата [³H]-ДА и [³H]-СТ. Процедуру захвата [³H]-ДА проводили по протоколу [19] с модификациями [6]. Процедуру захвата [³H]-СТ проводили со следующими модификациями: (1) синапсомы для проведения реакции захвата получали из фронтальной коры; (2) среда инкубации содержала 200 мкМ раствора хлоргидина; (3) среда для определения доли неспецифических процессов содержала 50 мкМ пароксетина; (4) время инкубации составляло 5 мин.

Статистическую обработку данных проводили стандартными методами с применением программ Statistika 6.0, GraphPad Prism 4, используя методы параметрической и непараметрической статистики (t-тест Стьюдента, Хи-квадрат, F-критерий Фишера, U-тест Манна-Уитни) согласно «Методическим рекомендациям по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (Москва, 2000). На рисунках звездочками обозначены значимые различия ($p < 0,05$). Результаты представлены в виде « $m \pm S.E.M$ ».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Предполагается, что в основе психостимулирующего действия препаратов могут лежать такие нейрохимические механизмы, как: (1) непосредственное взаимодействие с рецепторами дофамина, норадреналина и/или серотонина; (2) увеличение концентрации эндогенного нейромедиатора в синаптической щели через опосредованное воздействие на процессы биосинтеза, высвобождения, и/или механизмы его инактивации (катаболизм или обратный захват).

Эффекты ладастена и сиднокарба на дофаминовые и серотониновые рецепторы

На первом этапе исследования изучено влияние ладастена и сиднокарба непосредственно на дофаминовые рецепторы D₁-, D₂- и D₃-подтипов и на серотониновые рецепторы 5-HT_{1A}- и 5-HT_{2A}-подтипов в компетентных структурах мозга крыс *in vitro*. Исследуемые препараты не проявили эффектов в отношении данных видов рецепторов (на рисунках не представлено). Полученные нами результаты согласуются с имеющимися литературными данными [9] и позволяют предположить, что психостимулирующий эффект сиднокарба и ладастена реализуется не прямо, а через воздействие на процессы метаболизма и высвобождения дофамина и серотонина.

Эффекты ладастена и сиднокарба на биосинтез дофамина и серотонина

Используемые дозы ладастена, по литературным данным, соответствуют 30, 50, 100 мг/кг [4, 5, 14], в связи с чем в данном исследовании была выбрана доза 50 мг/кг внутривентриально. Препарат в условиях эксперимента *ex vivo* в данной дозе через 2 ч вызывал в стриатуме достоверное увеличение количества ДОФА на 40 % от контрольного значения (табл. 1). Происходило также значимое увеличение общего количества ДА в гомогенате стриатума на 20 % по сравнению с контролем. Важно отметить, что действие ладастена не затрагивало величин серотонинергических параметров — концентрации СТ, его предшественника 5-гидрокситриптофана (5-ГТП) и основного метаболита — 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ГИУК) — как в стриатуме, так и в ткани фронтальной коры.

Во второй серии экспериментов изучена способность ладастена влиять в аналогичных условиях *ex vivo* на процесс высвобождения эндогенных ДА и 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК). Перфузия изолированных стриатумов, проведенная через 2 ч после внутривентриального введения 50 мг/кг ладастена, обнаружила, что препарат ускоряет выход ДА до 30 % по сравнению с контролем. Высвобождение ДОФУК также возрастает под воздействием препарата на 70 % относительно контроля (рис. 1).

Таблица 1. Влияние ладастена и сиднокарба на содержание биогенных аминов в стриатуме крыс на фоне эффекта NSD1015 (нмоль/г ткани, $m \pm S.E.M$)

Варианты экспериментов	ДОФА	ДА	ДОФУК	ГВК	5-ГТП	СТ	5-ГИУК
Контроль 1 NSD1015, 50 мг/кг	2,77 ± 0,36	12,60 ± 1,03	1,34 ± 0,14	3,68 ± 0,35	0,11 ± 0,01	0,29 ± 0,03	0,54 ± 0,05
Ладастен, 50 мг/кг + NSD1015, 50 мг/кг	3,86 ± 0,35*	15,40 ± 1,10*	1,70 ± 0,17	2,82 ± 0,55	0,11 ± 0,01	0,44 ± 0,07	0,78 ± 0,06
Контроль 2 NSD1015, 50 мг/кг	2,06 ± 0,34	0,73 ± 0,06	2,20 ± 0,50	0,21 ± 0,16	2,41 ± 0,20	2,71 ± 0,17	12,30 ± 0,80
Сиднокарб, 17,5 мг/кг + NSD1015, 50 мг/кг	2,09 ± 0,17	0,71 ± 0,04	2,01 ± 0,16	0,24 ± 0,38	2,00 ± 0,18*	3,08 ± 0,30	11,60 ± 0,62

Примечание. Здесь и в табл. 2 * — статистически значимое отличие, критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$.

— тенденция к снижению относительно значения на фоне NSD1015, $p = 0,07$.

Вещества вводили внутривентриально.

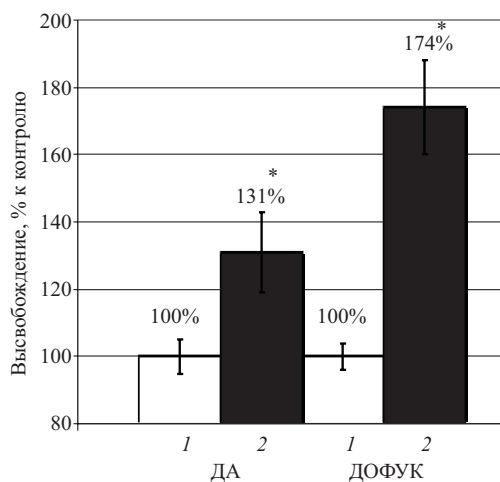


Рис. 1. Влияние ладастена на процесс высвобождения эндогенных ДА и ДОФУК на фоне введения ингибитора ДААК NSD1015 в стриатуме крыс линии Вистар.

* — статистически значимое отличие, критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$.
1 — физиологический раствор + NSD1015, 50 мг/кг, 2 — ладастен, 50 мг/кг + NSD1015, 50 мг/кг.

Таким образом, через 2 ч после системного введения ладастена в дозе 50 мг/кг в ткани стриатума крыс отмечается 30 – 40-процентное ускорение процессов биосинтеза ДА и повышение выброса ДА.

Сиднокарб в дозе 17,5 мг/кг, эквивалентной 50 мг/кг ладастена, не влиял на синтез ДА в стриатуме и коре, но снижал общую концентрацию ДА в гомогенате коры на 66 % по сравнению с контролем (табл. 2). Возможно, часть синаптически активного ДА переходит в гомованилиновую кислоту (ГВК) при участии фермента КОМТ, имеющего экстраклеточную локализацию (в исследовании не определялась), так как содержание ДОФУК, образующейся при участии внутриклеточного фермента МАО-В, не изменилось. Данные изменения могут быть связаны с ингибированием обратного захвата ДА сиднокарбом и/или ускорением его выброса.

Важно заметить, что под действием сиднокарба в стриатуме произошло значимое снижение синтеза СТ на 17 %, а в ткани коры имела место выраженная тенденция к его снижению ($p = 0,07$), табл. 1, 2. Известно, что применение амфетаминоподобных психостимуляторов часто сопровождается побочными эффектами, такими как снижение настроения, сонливость, диссомния, вегетативные расстройства [3]. Возможно, дан-

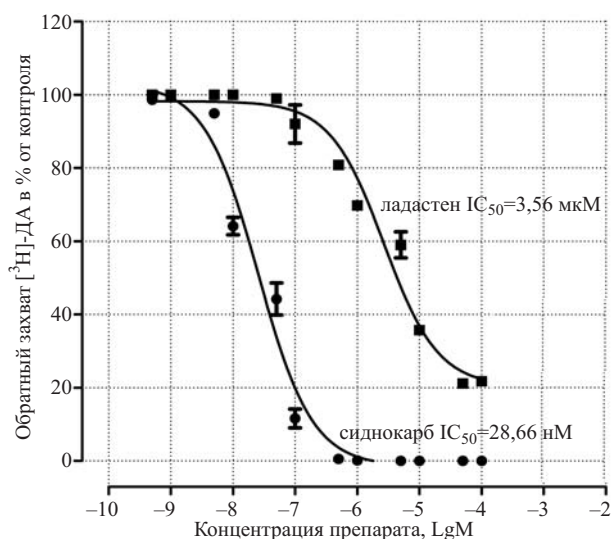


Рис. 2. Влияние ладастена и сиднокарба на характеристики обратного захвата $[^3\text{H}]$ -ДА синапсосомами стриатума крыс линии Вистар.

ные изменения связаны именно с влиянием сиднокарба на процесс биосинтеза СТ.

Из литературных данных известно [15], что спустя 2 ч после введения 23,8 мг/кг сиднокарба внеклеточное содержание ДА возрастает до 200 % по сравнению с контролем с последующим увеличением до 400 % к концу 4-го часа, а концентрация ДОФУК сначала постепенно возрастает до 200 % относительно контроля, а затем падает до 50 %.

Таким образом, сиднокарб в дозе 17,5 мг/кг вызывает снижение синтеза СТ в ткани стриатума и коры крыс, не влияя на синтез ДА и, по данным литературы [15], вызывает более выраженное по сравнению с ладастеном увеличение экстраклеточного содержания ДА.

Влияние ладастена и сиднокарба на обратный захват дофамина и серотонина

Важным компонентом стимулирующего действия психостимуляторов является их влияние на систему обратного захвата катехоламин- и индолергических нейромедиаторов, в связи с чем на третьем этапе исследования было проведено сопоставление способностей сиднокарба и ладастена угнетать синаптосомальный захват $[^3\text{H}]$ -ДА и $[^3\text{H}]$ -СТ.

Эксперименты на препаратах стриатума мозга крыс с использованием меченого $[^3\text{H}]$ -ДА *in vitro*, проведенные в стандартном диапазоне концентраций, показали,

Таблица 2. Влияние сиднокарба на содержание биогенных аминов в коре большого мозга крыс на фоне эффекта NSD1015 (нмоль/г ткани, $m \pm \text{S.E.M}$)

Варианты экспериментов	ДОФА	ДА	ДОФУК	ГВК	5-ГТП	СТ	5-ГИУК
NSD1015, 50 мг/кг	0,09 ± 0,04	1,18 ± 0,69	0,10 ± 0,02	Н. о.	1,36 ± 0,09	2,94 ± 0,09	2,92 ± 0,20
Сиднокарб, 17,5 мг/кг + NSD1015, 50 мг/кг	0,11 ± 0,03	0,40 ± 0,05*	0,20 ± 0,07	Н. о.	1,11 ± 0,08[#]	2,94 ± 0,09	2,94 ± 0,14

что сиднокарб ингибирует обратный захват [^3H]-ДА в наномолярном диапазоне концентраций, а ладастен — в микромолярном: величины IC_{50} соответствовали 28,66 нМ ($\text{pIC}_{50} = 7,54 \pm 0,08$) и 3,56 мкМ ($\text{pIC}_{50} = 5,45 \pm 0,09$), соответственно (рис. 2). При этом оба препарата не влияли на обратный захват [^3H]-СТ синапсосомами коры крыс (на рисунках не представлено).

Совокупность полученных сравнительных нейрохимических данных по влиянию сиднокарба и ладастена на рецепторы ДА и СТ, а также на процессы их биосинтеза и трансмембранного транспорта свидетельствует, что узость спектральной характеристики сиднокарба, представленной психостимулирующим действием, может быть обусловлена его свойствами селективного ингибитора обратного захвата ДА, в то время как активизирующая составляющая психотропного эффекта ладастена обеспечивается многокомпонентностью действия препарата на моноаминергические звенья, включающей стимуляцию синтеза, ускорение высвобождения ДА и “мягкое” ингибирование синапсосомального захвата ДА.

ВЫВОДЫ

1. Ладастен и сиднокарб *in vitro* неэффективны в отношении D_1 -, D_2 - и D_3 -подтипов рецепторов стриатума, а также серотониновых рецепторов $5\text{-HT}_{1\text{A}}$ - и $5\text{-HT}_{2\text{A}}$ -подтипов фронтальной коры крыс.

2. Ладастен *ex vivo* после однократного системного введения (50 мг/кг) стимулирует биосинтез и высвобождение дофамина (ДА) в стриатуме, не влияя на образование серотонина (СТ) в обеих структурах мозга. Напротив, сиднокарб (17,5 мг/кг) подавляет биосинтез СТ в стриатуме и коре, но не влияет на образование в них ДА.

3. Сиднокарб ингибирует пресинаптический транспорт дофамина в стриатуме в 100 раз эффективнее ладастена ($\text{IC}_{50} = 28,66$ нМ и 3,56 мкМ соответственно), но оба препарата инертны в отношении обратного захвата [^3H]-СТ синапсосомами коры мозга.

ЛИТЕРАТУРА

1. Д. А. Абаимов, И. А. Зимин, Г. И. Ковалев, *Экспер. и клин. фармакол.*, **71**(1), 18 – 21 (2008).

2. Д. А. Абаимов, И. А. Зимин, В. С. Кудрин, Г. И. Ковалев, *Экспер. и клин. фармакол.*, **72**(1), 64 – 67 (2009).
3. Ю. А. Александровский, *Состояния психической дезадаптации и их компенсация*, Москва (1976).
4. Ю. В. Вахитова, Р. С. Ямиданов, С. Б. Середенин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **67**(4), 7 – 11 (2004).
5. Т. Б. Грехова, Р. Р. Гайнединов, Т. Т. Сотникова и др., *Бюлл. exper. биол.*, **3**, 302 – 303 (1995).
6. Н. Н. Золотов, С. А. Сергеева, А. С. Лосев, *IV конференция «Биоантиоксидант»*, 20 – 21 (1993).
7. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, 12-е изд., т. 1 – 2, Медицина, Москва (1993).
8. Г. Г. Незнамов, В. К. Бочкарев, С. А. Сюняков, С. А. Гришин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **71**(4), 18 – 25 (2008).
9. И. А. Новоселов, К. С. Раевский, *Экспер. и клин. фармакол.*, **66**(6), 3 – 5 (2003).
10. С. Б. Середенин, А. Г. Мирамедова, М. М. Козловская, *Экспер. и клин. фармакол.*, **62**(3), 3 – 6 (1999).
11. А. Б. Смудевич, *Руководство по психиатрии*, Медицина, Москва (1993), сс. 527 – 606.
12. С. А. Сюняков, С. А. Гришин, Е. С. Телешова и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **69**(4), 10 – 15 (2006).
13. Т. В. Хамидова, Ю. Л. Чигиринский, И. С. Морозов, *Экспер. и клин. фармакол.*, **68**(3), 26 – 29 (2005).
14. М. А. Яркова, М. В. Воронин, С. Б. Середенин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **68**(3), 3 – 6 (2005).
15. I. I. Afanas'ev, E. A. Anderzhanova, V. S. Kudrin, and K. S. Rayevsky, *Pharmacology, Biochemistry, Behavior*, **69**, 653 – 658 (2001).
16. V. Bashcatova, et al., *Ann № Y Acad Sci.*, **965**, 180 – 192 (2002).
17. L. Kereczen, H. Kalasz, and J. Knoll, *Proc. 5th Meeting Eur. Soc. Neurochem.*, (E. S. Vizi and K. Magyar, eds.), pp. 349 – 351.
18. J. E. Leysen, C. J. Niemegeers, et al., *Mol. Pharmacol.*, **21**(2), 301 – 14 (1982).
19. M. Peeters, G. Page, J.-M. Maloteaux, and E. Hermans, *Brain Res.*, **949**, 32 – 41 (2002).
20. G. M. Rudenko and R. A. Altshuler, *Agressologie*, **20**, 265 – 270 (1979).
21. L. Rydelek-Fitzgerald, M. Teitler, et al., *Brain Res.*, **532**(1 – 2), 191 – 6 (1990).
22. W. Sun, N. Ginovart, et al., *Mol. Pharmacol.*, **63**(2), 456 – 62 (2003).
23. J. M. Witkin, N. Savtchenko, M. Mashkovsky, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **288**, 1298 – 1310, (1999).

Поступила 03.08.09

THE ROLE OF BRAIN DOPAMINERGIC AND SEROTONINERGIC SYSTEMS IN REALIZATION OF THE PSYCHOPHARMACOLOGICAL EFFECTS OF LADASTEN AND SYDNOCARB

I. A. Zimin¹, D. A. Abaimov¹, E. A. Budygin¹, Yu. A. Zolotarev², and G. I. Kovalev¹

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

² Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences, pl. Kurchatova 2, Moscow, 123182, Russia

The influence of ladasten and sydnocarb on dopamine and serotonin receptors and the biosynthesis and re-uptake of dopamine and serotonin has been studied. It is established that both drugs do not produce any direct effects on dopamine D_1 , D_2 , and D_3 receptors in rat striatum as well as on serotonin $5\text{-HT}_{1\text{A}}$ and $5\text{-HT}_{2\text{A}}$ receptors in rat frontal cortex *in vitro*. Ladasten in a single dose of 50 mg/kg (i.p.) stimulated *ex vivo* dopamine biosynthesis and release in striatum, without any influence on serotonin formation neither in striatum nor in frontal cortex. On the contrary, sydnocarb (17.5 mg/kg, i.p.) decreased the level of serotonin synthesis both in striatum and frontal cortex, while not affecting the biosynthesis of dopamine. Both ladasten and sydnocarb inhibited the active transport of dopamine in rat striatal synaptosomes at $\text{IC}_{50} = 3.56$ μM and 28.66 nM, respectively, but failed to influence the serotonin re-uptake in rat frontal cortex.

Key words: Psychostimulants, ladasten, sydnocarb, dopamine receptors, serotonin receptor, monoamines, dopamine, serotonin, dopamine release, striatum, re-uptake, synaptosomes, striatum, frontal cortex