

ВЛИЯНИЕ АМИТРИПТИЛИНА, ФЛУОКСЕТИНА И ТИАНЕПТИНА НА СОДЕРЖАНИЕ МОНОАМИНОВ И ИХ МЕТАБОЛИТОВ В СТРУКТУРАХ МОЗГА КРЫС

В. С. Кудрин, В. М. Мосин, П. М. Клодт, В. Б. Наркевич, Г. М. Молодавкин, Т. А. Воронина¹

Изучено влияние антидепрессантов различных групп — амитриптилина, флуоксетина и тианептина (внутрибрюшинно) на содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга (фронтальная кора, гипоталамус, прилежащее ядро (ПЯ), стриатум и гиппокамп) крыс Вистар методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией (ВЭЖХ-ЭД). Трициклический антидепрессант амитриптилин (10 мг/кг) увеличивал величину показателя утилизации ДОФУК/ДА в ПЯ и не влиял на содержание и оборот 5-ОТ и ДА в других изученных структурах мозга. Флуоксетин (20 мг/кг) снижал уровень 5-ОИУК, а также величину показателя утилизации 5-ОТ во всех изученных структурах мозга. Эффект антидепрессанта на содержание и метаболизм катехоламинов в различных структурах мозга крыс проявлялся неоднозначно, вплоть до разнонаправленности действия. Тианептин (12,5 мг/кг) увеличивал концентрацию 5-ОИУК, а также соотношение 5-ОИУК/5-ОТ практически во всех структурах мозга (за исключением ПЯ), что согласуется с концепцией о двухфазном характере механизма действия тианептина, в частности, об усилении выделения серотонина в синаптическую щель на первом этапе фармакологического ответа.

Ключевые слова: амитриптилин, флуоксетин, тианептин, крысы Вистар, дофамин, серотонин, метаболиты, структуры мозга, жидкостная хроматография

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время для лечения депрессий используют целый ряд лекарственных препаратов; среди них трициклические антидепрессанты, прежде всего, амитриптилин, ингибиторы МАО, селективные ингибиторы обратного захвата норадреналина [5, 6, 8]. Эти вещества проявляют мощное антидепрессивное действие и наиболее эффективны при лечении тяжелых форм депрессии. В то же время, данные соединения обладают значительными побочными эффектами, к числу которых относятся кардиотоксический и антихолинергический, что в значительной мере ограничивает их использование.

Одним из приоритетных направлений психофармакологии является создание веществ, обладающих высоким антидепрессантным потенциалом, но не вызывающих тяжелых побочных эффектов. К антидепрессантам нового поколения относятся препараты из группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС), в основе механизма действия которых лежит способность увеличивать содержание последнего в синаптической щели, препятствуя его метаболическому захвату пресинаптическими окончаниями. Одним из наиболее известных соединений данной группы является флуоксетин [5, 15]. В противоположность СИОЗС, новый препарат тианептин (коаксил) является стимулятором обратного захвата

серотонина [1, 4, 14, 16]. Показано, что тианептин обладает более выраженной активностью, чем флуоксетин в методике неизбежного плавания у крыс [3]. Однако участие серотонин- и дофаминергических систем мозга в механизме действия тианептина остается малоизученным.

Целью данной работы являлось сравнительное изучение эффектов антидепрессантов амитриптилина, флуоксетина и тианептина на содержание и метаболизм моноаминов в различных структурах мозга крыс Вистар методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией (ВЭЖХ-ЭД).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на самцах крыс линии Вистар массой 200–250 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария, со свободным доступом к воде и пище при температуре лабораторного помещения 22 ± 1 °С. Правила работы с животными и протоколы экспериментов утверждены этической комиссией НИИ фармакологии имени В. В. Закусова РАМН. Контрольной группе крыс вводили физиологический раствор (0,9 % NaCl). Антидепрессанты использовали в эквивалентных дозах: амитриптилин — 10 мг/кг, флуоксетин — 20 мг/кг, тианептин — 12,5 мг/кг. Все вещества вводили внутрибрюшинно. Во избежание влияния суточных ритмов на ферментативную активность, животных декапитировали в промежуток времени с 11.00 до 12.00 через 60 мин после введения изучаемых соединений. На леду быстро извлекали

¹ Лаборатория нейрхимической фармакологии и лаборатория психофармакологии НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.
E-mail: kudrinv@saport2000.ru, kudrinv@saport.ru

мозг и выделяли фронтальную кору (ФК), гипоталамус (Гпт), прилежащее ядро (ПЯ), стриатум (Ст) и гиппокамп (Гип). Структуры замораживали в жидком азоте, взвешивали и до хроматографических исследований хранили в жидком азоте. Выделенные структуры размельчали для последующих биохимических экспериментов при 4 °С в гомогенизаторе “стекло — тефлон” с помощью пестика (0,2 мм) при скорости вращения 3000 об/мин. В качестве среды выделения использовали 0,1 н. HClO_4 с добавлением внутреннего стандарта ДОБА (диоксibenзиламин, вещество катехоламиновой природы, но не встречающееся в нативной ткани) в концентрации 0,5 нмоль/мл. Прилежащее ядро гомогенизировали в 40 объемах, остальные структуры мозга — в 20 объемах среды выделения. Пробы центрифугировали при 10000 g в течение 15 мин. Супернатант использовался в тот же день для хроматографического определения моноаминов и их метаболитов. Содержание моноаминов и их метаболитов [норадреналин (НА), дофамин (ДА), 3, 4-диоксифенилуксусная кислота (ДОФУК), гомованилиновая кислота (ГВК), серотонин (5-ОТ), оксииндолуксусная кислота (5-ОИУК)] определяли с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ион-парная хроматография) с электрохимической детекцией (ВЭЖХ/ЭД) [2]. Для калибровки хроматографа использовали смеси рабочих стандартов определяемых веществ в концентрации 500 пмоль/мл. Данные нейрхимических экспериментов обрабатывали с помощью программы Excel, сравнивали между собой, используя t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты экспериментов по изучению содержания серотонина, катехоламинов и их метаболитов в структурах мозга крыс Вистар представлены в табл. 1. Данные о содержании моноаминов контрольной группы принимали за 100 %, эффекты исследуемых препаратов оценивали в процентах по отношению к этой величине.

Показано, что трициклический антидепрессант amitriptilin вызывал недостоверное увеличение содержания серотонина в полосатом теле и снижение

уровня НА в Ст, ДА в Гпк. Amitriptilin вызывал достоверное увеличение оборота ДОФУК/ДА в ПЯ (табл. 2). Отсутствие значимого эффекта amitriptilina на содержание и оборот катехол- и индоламинов в структурах мозга крыс было показано и ранее [11].

Флуоксетин достоверно повышал уровень 5-ОТ в Гпт и Гпк, в остальных исследованных структурах отмечалась лишь тенденция к увеличению этого показателя. Содержание метаболита серотонина 5-ОИУК снижено во всех структурах мозга за исключением ФК. Снижение уровня метаболита серотонина 5-ОИУК может свидетельствовать об ингибировании флуоксетином активности фермента деградации MAO [11]. Кроме того, препарат увеличивал уровень НА в Ст и Гпк, но снижал его в ПЯ. Под влиянием флуоксетина уровень ДА был увеличен в Гпт и понижен в ФК и Гпк. Содержание ДОФУК при этом было увеличенным в ПЯ и сниженным в ФК и Гпк. Концентрация другого метаболита дофамина, ГВК, была увеличена во всех структурах, кроме ПЯ, причем максимальные эффекты наблюдались в ФК.

Атипичный трициклический антидепрессант тианептин вызывал значительное изменение баланса нейромедиаторов и их метаболитов практически во всех исследованных структурах мозга. Антидепрессант не влиял на уровень 5-ОТ ни в одной из исследуемых структур, однако увеличивал концентрацию 5-ОИУК в ФК, Гпт, Ст и Гип, а также соотношение 5-ОИУК/5-ОТ в Гпт, ФК и Гпк, что может быть связано с усилением захвата внеклеточного серотонина и утилизацией его путем окислительного дезаминирования [10, 16]. Кроме того, было обнаружено, что антидепрессант увеличивает уровень НА в ФК, значительно повышает его в стриатуме и снижает в ПЯ. Отмечено снижение уровня ДА в ФК при увеличении содержания его метаболитов ДОФУК в ПЯ, Гпт, Ст и ГВК — в ПЯ и Ст. Комплексный показатель ДОФУК/ДА, свидетельствующий о скорости утилизации ДА, возрастал в Гпт, ФК, ПЯ. Отмечалось увеличение другого параметра оборота дофамина — отношения ГВК/ДА в ПЯ и Ст. Полученные данные о снижении содержания 5-ОИУК в Гпт и ПЯ являются подтверждением проявления эффектов указанного антидепрессанта на серотонинергическую систему, наблюдаю-

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

| Структура мозга | 5-ОТ | 5-ОИУК | 5-ОИУК/ 5-ОТ | НА | ДА | ДОФУК | ГВК | ДОФУК/ДА | ГВК/ДА |
|------------------|--------------|-------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
| Фронтальная кора | 6,84 ± 0,43 | 3,79 ± 0,22 | 0,56 ± 0,04 | 1,55 ± 0,07 | 0,60 ± 0,02 | 0,13 ± 0,01 | 0,12 ± 0,02 | 0,22 ± 0,02 | 0,21 ± 0,04 |
| Гипоталамус | 14,56 ± 0,42 | 6,39 ± 0,22 | 0,44 ± 0,01 | 12,02 ± 0,30 | 2,76 ± 0,18 | 0,42 ± 0,03 | 0,13 ± 0,01 | 0,14 ± 0,01 | 0,05 ± 0,00 |
| Прилежащее ядро | 14,31 ± 0,45 | 5,73 ± 0,32 | 0,40 ± 0,02 | 3,16 ± 0,32 | 16,50 ± 0,77 | 1,77 ± 0,09 | 1,04 ± 0,10 | 0,11 ± 0,00 | 0,06 ± 0,00 |
| Стриатум | 8,36 ± 0,49 | 6,61 ± 0,50 | 0,79 ± 0,03 | 0,40 ± 0,09 | 64,21 ± 1,94 | 30,93 ± 1,47 | 2,59 ± 0,09 | 0,57 ± 0,05 | 0,04 ± 0,01 |
| Гиппокамп | 17,56 ± 0,85 | 3,39 ± 0,28 | 0,20 ± 0,02 | 1,26 ± 0,08 | 0,08 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 | 0,07 ± 0,02 | 0,25 ± 0,08 | 0,69 ± 0,21 |

Примечание. Приведены средние значения и стандартные ошибки ($n = 10; M \pm S.E.M.$).

щихся в виде увеличения скорости метаболизма ДА, что сопровождается повышением внеклеточного содержания серотонина [12].

До настоящего времени антидепрессивные эффекты тианептина связывали не столько с его воздействием на серотонинергическую систему, сколько со способностью тианептина подавлять гиперстимуляцию глутаматергических рецепторов АМРА и каинатного подтипов в гиппокампе, возникающую вследствие избыточного поступления ионов Ca^{2+} в нейрон, которая, в свою очередь, является результатом клеточного стресса [13]. В последнее время опубликована гипотеза, согласно которой тианептину присуще двухфазное действие: на первой стадии происходят серотонинергические нейрхимические процессы, к числу которых относят не только обратный захват серотонина в пресинаптические окончания, но и параллельно протекающий встречный процесс активации его выброса в синаптическую щель. На втором этапе включаются нейропротекторные механизмы компенсации нарушенной глутаматергической нейротрансмиссии [7]. Полученные нами данные об увеличении содержания 5-ОИУК и показателей утилизации серотонина 5-ОИУК/5-ОТ практически во всех изученных структурах мозга (за исключением ПЯ) согласуются с данными С. Fattacini и соавт, а также группы С. Labrid, наблюдавшими значительное усиление высвобождения серотонина из внутринейрональных мест его хранения [10, 14]. Увеличение содержания метаболитов не только 5-ОТ, но и ДА (ДОФУК и ГВК), зарегистрированное нами в ПЯ и Ст, может свидетельствовать об увеличении синтеза моноаминов и/или возрастании выброса моноаминов в синаптическую щель, что согласуется с вышеупомянутой концепцией о двухфазном характере действия тианептина, в частности, об

усилении выделения серотонина в синаптическую щель на первом этапе фармакологического ответа [7].

Выявленное нами увеличение содержания 5-ОИУК в гиппокампе, структуре, играющей ключевую роль в реализации эмоциональных проявлений тревожных реакций, согласуется с данными о наличии у тианептина анксиолитических свойств [16].

Полученные результаты свидетельствуют об уникальности спектров эффектов изученных антидепрессантов различных групп на нейрхимический профиль различных структур мозга и позволяют предполагать участие в механизме действия флуоксетина и тианептина не только серотонин-, но и норадрен- и дофаминергических систем мозга. В противоположность этим антидепрессантам, amitриптилин не оказывает влияние на содержание и оборот 5-ОТ в структурах мозга крыс.

ВЫВОДЫ

1. Трициклический антидепрессант amitриптилин (10 мг/кг) увеличивает величину показателя утилизации ДОФУК/ДА в прилежащее ядро и не влияет на содержание и оборот серотонина и дофамина в других изученных структурах мозга крыс Вистар.

2. Селективный ингибитор обратного захвата серотонина флуоксетин (20 мг/кг) снижает уровень 5-ОИУК и величину показателя утилизации серотонина во всех изученных структурах мозга крыс. Эффект антидепрессанта на содержание и метаболизм катехоламинов в различных структурах мозга крыс проявляется неоднозначно, вплоть до разнонаправленности действия.

3. Стимулятор обратного захвата серотонина тианептин (12,5 мг/кг) увеличивает концентрацию 5-ОИУК, а также соотношение 5-ОИУК/5-ОТ во всех

Таблица 2. Влияние антидепрессантов на содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга крыс Вистар (% от контроля)

| Препарат | Структуры мозга | 5-ОТ | 5-ОИУК | 5-ОИУК/ 5-ОТ | НА | ДА | ДОФУК | ГВК | ДОФУК/ДА | ГВК/ДА |
|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|---------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|
| Амитриптилин | ФК | 103,1 ± 4,3 | 109,5 ± 3,6 | 106,7 ± 4,6 | 106,5 ± 4,5 | 103,5 ± 3,5 | 88,2 ± 7,7 | 107,9 ± 13,2 | 87,7 ± 9,5 | 104,8 ± 13,9 |
| | Гпт | 101,7 ± 4,0 | 102,5 ± 3,7 | 108,6 ± 7,1 | 96,3 ± 4,4 | 103,6 ± 6,8 | 110,5 ± 4,3 | 99,2 ± 8,0 | 104,2 ± 7,5 | 99,3 ± 7,6 |
| | ПЯ | 99,0 ± 5,7 | 96,4 ± 6,3 | 95,5 ± 3,8 | 111,3 ± 8,5 | 92,9 ± 6,5 | 101,6 ± 7,1 | 104,9 ± 8,9 | 110,2 ± 3,6* | 107,6 ± 7,0 |
| | Стр | 133,3 ± 24,3 | 107,3 ± 7,3 | 105,1 ± 20,0 | 62,1 ± 9,8 | 113,0 ± 6,1 | 127,0 ± 12,3 | 118,5 ± 16,9 | 103,0 ± 11,2 | 78,8 ± 10,5 |
| | Гип | 94,8 ± 3,5 | 103,2 ± 3,0 | 105,2 ± 2,6 | 109,4 ± 9,7 | 89,3 ± 12,0 | 118,0 ± 42,8 | 79,3 ± 21,9 | 87,6 ± 22,8 | 94,0 ± 23,9 |
| Тианептин | ФК | 105,9 ± 2,5 | 132,7 ± 6,1* | 116,6 ± 3,7* | 119,1 ± 6,9* | 86,6 ± 3,9* | 128,0 ± 9,0 | 128,1 ± 14,4 | 140,2 ± 12,5* | 133,2 ± 15,4 |
| | Гпт | 103,5 ± 4,4 | 121,6 ± 4,9* | 126,3 ± 7,8* | 94,4 ± 5,2 | 113,9 ± 7,0 | 141,0 ± 8,7* | 130,1 ± 15,9 | 125,9 ± 8,1* | 113,5 ± 9,6 |
| | ПЯ | 91,1 ± 5,3 | 111,1 ± 5,0 | 122,7 ± 7,4 | 76,7 ± 10,2 | 98,0 ± 2,8 | 142,8 ± 4,5* | 162,3 ± 11,2* | 144,6 ± 6,9* | 160,5 ± 13,0* |
| | Стр | 103,2 ± 7,2 | 121,3 ± 5,9* | 129,8 ± 11,2 | 308,6 ± 213,5 | 100,9 ± 7,4 | 148,7 ± 9,9* | 152,1 ± 13,1* | 114,5 ± 8,7 | 161,2 ± 28,6 |
| | Гип | 98,3 ± 4,7 | 125,6 ± 3,4* | 126,8 ± 6,6* | 106,6 ± 7,1 | 90,3 ± 23,0 | 108,5 ± 31,5 | 98,6 ± 21,1 | 107,5 ± 28,3 | 77,5 ± 20,8 |
| Флуоксетин | ФК | 110,0 ± 5,7 | 95,9 ± 5,7 | 87,3 ± 7,2 | 113,6 ± 9,4 | 48,1 ± 11,1* | 22,8 ± 5,2* | 266,5 ± 36,3* | 76,5 ± 29,1 | 287,7 ± 29,1* |
| | Гпт | 124,3 ± 4,9* | 77,7 ± 4,9* | 63,8 ± 5,5* | 93,2 ± 5,0 | 123,5 ± 3,9* | 139,4 ± 31,9 | 154,5 ± 26,4 | 103,6 ± 22,5 | 149,0 ± 27,0 |
| | ПЯ | 104,1 ± 3,3 | 75,2 ± 3,5* | 78,1 ± 9,9 | 58,7 ± 7,1* | 117,9 ± 6,3 | 131,6 ± 9,4* | 101,2 ± 9,1 | 115,7 ± 3,1* | 98,3 ± 14,8 |
| | Стр | 109,6 ± 7,4 | 79,7 ± 3,3 | 75,2 ± 7,2* | 173,2 ± 18,5* | 98,4 ± 2,5 | 109,7 ± 6,2 | 147,1 ± 15,0 | 103,6 ± 4,7 | 94,6 ± 17,8 |
| | Гип | 129,4 ± 6,8* | 80,2 ± 5,4 | 67,7 ± 7,9* | 124,5 ± 12,8 | 66,0 ± 5,3 | 89,9 ± 20,3 | 128,1 ± 33,5 | 111,9 ± 26,5 | 151,0 ± 39,8 |

Примечание. Данные представлены в процентах по отношению к контролю;

* — различия достоверны по сравнению с контролем при $p < 0,05$ (t-критерий Стьюдента).

структурах мозга, за исключением прилежащего ядра, что согласуется с концепцией о двухфазном характере механизма действия тianeптина.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. М. Балашов, *Психиатр. и психофармакотер.*, **11**(2), 4 – 5 (2009).
2. И. И. Мирошниченко, В. С. Кудрин, К. С. Раевский, *Фармакол. и токсикол.*, **51**(2), 26 – 29 (1988).
3. Г. М. Молодавкин, Т. А. Воронина, О. К. Мелетова, *Экспер. и клин. фармакол.*, **68**(3), 10 – 12 (2005).
4. С. Н. Мосолов, А. С. Аведисова, О. П. Вертоградова и др., *Ж. неврол. и психиатрии им. С. С. Корсакова*, **103**(11), 25 – 32 (2003).
5. К. С. Раевский, *Психиатр. и психофармакотер.*, **3**(5), 162 – 166 (2001).
6. А. Б. Смулевич, В. Н. Козырев, М. Ю. Дробижев и др., *Ж. неврол. и психиатрии им. С. С. Корсакова*, **103**(8), 29 – 34 (2003).
7. М. Г. Узбеков, *Ж. неврол. и психиатрии им. С. С. Корсакова*, **109**(1), 67 – 69 (2009).
8. А. В. Ушкалова, *Фарматека*, № 7 (122), 9 – 19 (2006).
9. C. D. Conrad, Y. Kuroda, and B. S. McEwen, *Eur. Neuropsychopharmacol.*, **7**(Suppl 3), S341 – S345 (1997).
10. C. M. Fattaccini, F. Bolanos-Jimenez, H. Gozlan, and M. Hamon, *Neuropharmacol.*, **31**(3), 221 – 227 (1992).
11. A. V. Juorio and A. A. Boulton, *Eur. J. Pharmacol.*, **97**(3 – 4), 191 – 196 (1984).
12. R. Invernizzi, L. Pozzi, S. Garattini, and R. Samanin, *Neuropharmacol.*, **29**(1), 1 – 8 (1990).
13. S. Kasper and B. C. McEwen, *CNS Drugs*, **22**, 16 – 26 (2008).
14. C. Labrid, E. Mocaer, and A. Kamoun, *Br. J. Pharmacol.*, **15**(Suppl), 56 – 60 (1992).
15. E. T. Leonardi and E. C. Azmitia, *Neuropsychopharmacol.*, **10**(4), 231 – 238 (1994).
16. A. Wagstaff, D. Ormrod, and C. M. Spencer, *CNS Drugs*, **15**, 16 – 26 (2001).

Поступила 06.08.09

STUDYING EFFECTS OF AMITRIPTYLINE, FLUOXETINE, AND TIANEPTINE ON THE CONTENT OF MONOAMINES AND THEIR METABOLITES IN WISTAR RAT BRAIN STRUCTURES

V. S. Kudrin*, V. M. Mosin, P. M. Klodt, V. B. Narkevich, G. M. Molodavkin, and T. A. Voronina

Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 125315, Russia

* e-mail: kudrinvs@aport2000.ru; kudrinvs@aport.ru

The effects of antidepressant drugs belonging to different pharmacological groups – amitriptyline, fluoxetine (prozac), and tianeptine (coaxyl) – on the content of monoamines and their metabolites in Wistar rat brain structures (frontal cortex, hypothalamus, nucleus accumbens, striatum, and hippocampus) has been studied using HPLC with electrochemical detection. Tricyclic antidepressant amitriptyline (10 mg/kg) was found to produce a moderate increase in the DOPAC/dopamine turnover index in nucleus accumbens, but did not influence the levels of serotonin (5-HT), dopamine, and its metabolites (5-HIAA, DOPAC, and HVA) in other brain structures studied (frontal cortex, hypothalamus, striatum, hippocampus). Fluoxetine (Prozac) (20 mg/kg) decreased both the 5-HIAA content and the 5-HIAA/5-HT (5-HT turnover index) in all brain structures of Wistar rats. In contrast, the effects of Prozac on the level of catecholamines and their metabolites in various brain regions was more complex. Tianeptine (Coaxyl) was demonstrated to increase both the 5-HIAA content and the 5-HIAA/5-HT ratio in all the structures studied (except for nucleus accumbens), in good agreement with the hypothesis concerning a two-phase mode of tianeptine action with enhanced 5-HT secretion in the synaptic gap in the first stage of pharmacological response.

Key words: Amitriptyline, fluoxetine (prozac), tianeptine (coaxyl), dopamine, serotonin (5-HT), metabolites, brain structures, liquid chromatography