

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

БЛОКИРУЕМОЕ НАЛОКСОНОМ ПОДАВЛЕНИЕ β -КАЗОМОРФИНАМИ-7 ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ ГИПЕРФУНКЦИИ СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ МЫШЕЙ

А. А. Зозуля¹, В. К. Мешавкин, О. Ю. Соколов, Н. В. Кост¹

Проведено исследование влияния β -казоморфинов-7 человека и быка на поведенческие проявления гиперфункции серотониновой системы мышей, индуцированной введением 5-гидрокситриптофана, в тесте “встряхивание головой”. Показано, что оба пептида в дозе 1 мг/кг ослабляют гиперкинез животных почти в 2 раза ($p < 0,01$), и этот эффект казоморфинов полностью блокируется налоксоном (10 мг/кг), который сам по себе не влияет на поведение мышей в этом тесте. Таким образом, впервые продемонстрировано влияние казоморфинов на серотониновую систему *in vivo*. Обсуждается возможность участия серотониновых и опиоидных рецепторов в реализации зарегистрированных эффектов казоморфинов.

Ключевые слова: казоморфины, серотониновая система, налоксон, тест “встряхивание головой”

ВВЕДЕНИЕ

Казоморфины — группа биологически активных пептидов, образующихся в желудочно-кишечном тракте в результате гидролиза казеинов молока [1, 4, 14]. Из этой группы наиболее изучены в настоящее время фрагменты β -казеинов — гептапептиды β -казоморфины-7 (β -КМ-7). В организме детей первого года жизни казоморфины выполняют, по-видимому, весьма важные функции, связанные с регуляцией психомоторного развития и материнско-детского взаимодействия [1, 8]. Вместе с тем предполагается, что появление этих пептидов в крови детей раннего возраста может являться одним из патогенетических звеньев детского аутизма [11].

Механизм действия β -КМ-7 в норме и при патологии связывают, прежде всего, с их сродством к μ -опиоидным рецепторам [14]. Однако в последние годы появились данные о способности β -КМ-7 взаимодействовать и с серотониновыми рецепторами. Эти результаты получены как радиорецепторным методом [12], так и при исследовании их способности подавлять вызванную серотонином агрегацию тромбоцитов [7]. Однако влияние казоморфинов на серотониновую систему *in vivo* до настоящего времени не изучено.

Целью настоящего исследования было изучение способности β -КМ-7 человека и быка влиять на поведенческие проявления гиперфункции серотонинергической системы крыс в тесте “встряхивание головой”.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

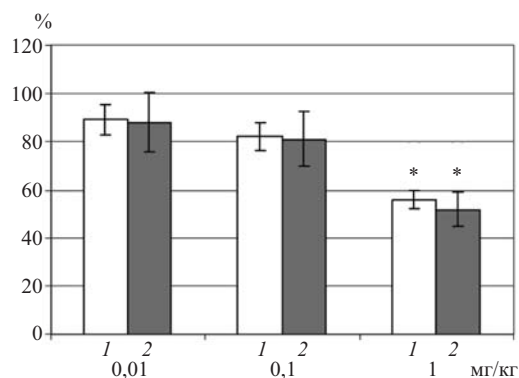
Исследование проведено на беспородных белых мышцах-самцах ($22 \pm 0,2$ г), полученных из питомника РАМН Крюково-Центральное. Животные были распределены на гомогенные экспериментальные группы (по 10 мышей в каждой) в соответствии с их исходной двигательной активностью, протестированной в автоматизированной системе Rat-o-Matic (“Adea Elektronik AB”, Швеция). Гиперфункцию серотониновой системы индуцировали внутрибрюшинным введением предшественника серотонина 5-гидрокситриптофана (5-hydroxytryptophan, 5-НТР) в дозе 300 мг/кг (тест “встряхивание головой”) [5]. Количество встряхиваний головой у каждой мыши подсчитывали в течение 1 мин через каждые 10 мин на протяжении часа после введения 5-НТР. β -КМ-7 человека (Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro-Ile) и быка (Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-Ile) в дозах от 0,01 до 1 мг/кг и/или налоксон (10 мг/кг) вводили внутрибрюшинно за 30 мин до тестирования.

Статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни (U-test).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Показано, что β -КМ-7 человека и быка обладают сравнимой способностью блокировать индуцированную 5-НТР гиперфункцию серотонинергической системы. Этот эффект является дозозависимым: проявляется в виде тенденции при использовании пептидов в дозах 0,01–0,1 мг/кг и становится достоверным ($p < 0,01$) при введении пептидов в дозе 1 мг/кг. В

¹ Научный центр психического здоровья РАМН, 113152, Москва, Загородное шоссе, 2.



Влияние β -казоморфинов-7 человека (1) и быка (2) на выраженность индуцированного 5-гидрокситриптофаном гиперкинеза у мышей.

По оси абсцисс — дозы интраперитонеально вводимых пептидов, мг/кг; по оси ординат — выраженность гиперкинеза в % от контроля. В каждой группе — по 10 мышей. * — $p < 0,01$ — отличие от контроля.

этой дозе оба пептида снижали выраженность гиперкинеза почти в 2 раза (рисунок).

Сам по себе налоксон не влиял на поведение животных в тесте “встряхивание головой”. Вместе с тем его одновременное введение с пептидами приводило к полному блокированию способности β -КМ-7 подавлять вызванный 5-НТР гиперкинез у мышей (таблица).

Эффекты β -КМ-7, зарегистрированные в данном тесте, можно было бы объяснить обнаруженными ранее у этих пептидов свойствами антагонистов серотониновых рецепторов [7]. Однако блокирование эффекта β -КМ-7 налоксоном свидетельствует об участии опиоид-зависимого этапа в цепи событий, вызванных введением казоморфинов и приводящих к снижению поведенческих проявлений фармакологически индуцированной гиперфункции серотониновой системы.

Литературные данные о взаимодействии опиоидной и серотониновой систем в настоящее время весьма немногочисленны и противоречивы. С одной стороны, в тесте “сползания с приподнятой площадки” (slip-down behavior), который, в условиях гиперактивации моноаминергических систем, также как и “встряхивание головы”, рассматривается как модель психотического поведения, обнаружена способность антагонистов

Блокируемый налоксоном депримирующий эффект β -казоморфинов-7 человека и быка на индуцированные введением 5-гидрокситриптофана поведенческие проявления гиперфункции серотониновой системы (встряхивания головой/час наблюдения)

Группа животных, препарат	Без налоксона	Налоксон, 10 мг/кг
Контрольная	57 ± 2	59 ± 3
β -казоморфин-7 человека, 1 мг/кг	34 ± 3*	57 ± 5
β -казоморфин-7 быка, 1 мг/кг	36 ± 2*	57 ± 5

Примечание. * — $p < 0,01$ — отличие от контроля и соответствующей группы с налоксоном. В каждой группе — по 10 мышей.

опиоидных рецепторов μ - и δ -типов подавлять поведенческие эффекты агониста 5-НТ₂-рецепторов DOI [9]. Микродиализ агонистов опиоидных рецепторов μ - и δ -типов в область ядер шва увеличивает внеклеточное содержание серотонина в этом отделе мозга крыс [13]. Эти данные свидетельствуют о синергичном действии обсуждаемых систем.

С другой стороны, показано, что агонисты 5-НТ_{1A}-рецепторов (но не антагонисты 5-НТ_{1A}-, 5-НТ₂- и 5-НТ₃-рецепторов) ослабляют антиноцицептивное действие морфина [10]. Периферическое введение селективного агониста δ -опиоидных рецепторов DPDPE самкам крыс в превуляторный период снижает исходно повышенное содержание серотонина в гипоталамусе [15]. У крыс с хроническим истощением серотониновой системы гептапептид селанк, один из механизмов поведенческих эффектов которого связан с активацией опиоидной системы [2, 3], нормализует уровень серотонина в мозге [6]. То есть на фоне измененной активности серотониновой системы опиоиды оказывают на нее нормализующее действие.

Результаты проведенного нами исследования согласуются с последней группой данных. β -КМ-7, являясь одновременно антагонистами 5-НТ₂-рецепторов [7] и агонистами опиоидных рецепторов, преимущественно, μ -типа [14], уменьшают индуцированную 5-НТР гиперфункцию серотониновой системы (рисунок). В пользу доминирования опиоидной компоненты в механизме реализации обнаруженного эффекта свидетельствует его блокада налоксоном (таблица).

ВЫВОДЫ

1. Бета-казоморфины-7 человека и быка в дозе 1 мг/кг обладают способностью блокировать индуцированную 5-гидрокситриптофаном гиперфункцию серотонинергической системы.

2. Этот эффект казоморфинов полностью блокируется налоксоном в дозе 10 мг/кг, который сам по себе не влияет на поведение мышей в тесте “встряхивание головой”.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ офи 06-04-08257.

ЛИТЕРАТУРА

- В. А. Дубынин, Ю. А. Ивлева, А. А. Каменский, *Усп. физиол. наук*, **35**(1), 83 – 101 (2004).
- Н. В. Кост, В. К. Мешавкин, О. Ю. Соколов и др., *Вестн. РАМН*, № 3, 24 – 33 (2007).
- В. К. Мешавкин, Н. В. Кост, О. Ю. Соколов и др., *Бюл. экпер. биол.*, **142**(11), 545 – 548 (2006).
- И. Г. Михеева, О. Б. Курасова, Т. Г. Верещагина и др., *Педиатрия*, № 5, 96 – 99 (2003).
- Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Р. У. Хабриев (ред.), ОАО Издательство “Медицина”, Москва (2005).
- С. Б. Середин, Т. П. Семенова, М. М. Козловская и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **58**(6), 3 – 6 (1995).

7. О. Ю. Соколов, Н. А. Пряникова, Н. В. Кост и др., *Бюл. экпер. биол.*, **140**(11), 595 – 598 (2005).
8. О. Ю. Соколов, Н. В. Кост, О. Б. Курасова и др., *Вестн. РАМН*, № 3, 33 – 39 (2007).
9. Y. Masuda, M. Suzuki, T. Takemura, et al., *Tohoku J. Exp. Med.*, **201**(1), 23 – 27 (2003).
10. K. R. Powell and L. A. Dykstra, *Psychopharmacology (Berl.)*, **126**(1), 42 – 49 (1996).
11. P. Shattock and P. Whiteley, *Expert Opin Ther Targets*, **6**(2), 175 – 183 (2002).
12. O. Yu. Sokolov, N. V. Kost, Yu. A. Zolotarevet, et al., *Protein and Peptide Letters*, **13**(2), 169 – 170 (2006).
13. R. Tao and S. B. Auerbach, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **303**(2), 549 – 556 (2002).
14. H. Teschmacher, *Curr. Pharm. Des.*, **9**(16), 1331 – 1344 (2003).
15. B. Yilmaz, D. P. Gilmore, and C. A. Wilson, *Eur J. Endocrinol.*, **139**(5), 546 – 551 (1998).

Поступила 31.04.08

NALOXONE-INDUCED REVERSIBLE SUPPRESSION OF THE BEHAVIORAL MANIFESTATION OF SEROTONINERGIC SYSTEM HYPERACTIVATION BY β -CASOMORPHINS-7 ON MICE

A. A. Zozulya, V. K. Meshavkin, O. Yu. Sokolov, and N. V. Kost

National Center for Mental Health, Russian Academy of Medical Sciences, Zagorodnoe shosse 2/2, Moscow, 113152, Russia

The effect of human and bovine β -casomorphins-7 on the behavior of mice under conditions of 5-hydroxytryptophan (5-HT) induced hyperactivation of the serotonergic system (head twitch test) has been studied. Intraperitoneal administration of each peptide in a dose of 1 mg/kg was shown to suppress the head twitch response in mice approximately by half ($p < 0.01$). This effect was completely blocked by the opioid receptor antagonist naloxone (10 mg/kg), which did not alter the behavior of mice in the head twitch test by itself. Thus, the influence of casomorphins on the serotonergic system *in vivo* has been demonstrated for the first time. The role of 5-HT and opioid receptors in the mechanism of casomorphin action is discussed.

Key words: Casomorphins, serotonergic system, naloxone, head twitch test