

# ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

## ВЛИЯНИЕ СЕЛЕКТИВНЫХ ЛИГАНДОВ ДОФАМИНОВЫХ И СЕРОТОНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ТОЛЕРАНТНОСТЬ К ГЛОБАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

В. И. Кулинский, С. С. Гаврилов<sup>1</sup>

Селективные агонисты D-рецепторов несколько улучшают толерантность головного мозга к глобальной ишемии (D<sub>2</sub> и D<sub>3</sub>) или не влияют на нее (D<sub>1</sub>, D<sub>4</sub>). Из антагонистов дофаминовых и серотониновых рецепторов только D<sub>1</sub>-блокатор SCH 23390 и 5-HT<sub>2A</sub>-блокатор кетансерин обладают небольшим нейропротекторным эффектом. Блокаторы D<sub>2</sub>-D<sub>4</sub>- и 5-HT<sub>2B</sub>- и 5-HT<sub>2C</sub>-рецепторов не активны. Одновременное введение трех антагонистов — раклоприда (D<sub>2</sub>), GR 103691 (D<sub>3</sub>) и L 745870 (D<sub>4</sub>) не защищает мозг. Эти результаты не согласуются с распространенной гипотезой, что аккумуляция в мозге внеклеточных серотонина и особенно дофамина является причиной повреждения нейронов. Эффект кетансерина не увеличивается D<sub>2</sub>- или D<sub>4</sub>-блокаторами, но одновременное введение D<sub>3</sub>-GR 103691 (+88 %) и особенно трех D<sub>2</sub>-D<sub>4</sub>-антагонистов усиливает активность кетансерина (+134 %). НПЭ суммы этих 4 антагонистов не уступает и даже выше, чем некоторых нейролептиков. Это показывает возможность увеличения толерантности к ишемии головного мозга путем совместной блокады дофаминовых и серотониновых рецепторов.

**Ключевые слова:** дофамин, серотонин, рецепторы, толерантность, ишемия головного мозга

### ВВЕДЕНИЕ

При ишемии в головном мозге, особенно в стриатуме, происходит резкое увеличение внеклеточной концентрации ряда моноаминов, особенно дофамина: от нМ до мкМ уровня (его прирост в 2 – 100 раз более, чем глутамата) [9, 14]. Аккумуляция последнего в сердцевине (core) поражения больше, чем в зоне “полутени” (penumbra), и тем больше, чем тяжелее ишемия. Освобождение дофамина из нейронов наиболее велико при глобальной ишемии, особенно при остановке сердца (при фокальной ишемии работ мало). Накопление дофамина в мозге считают вероятной причиной эксайтотоксического повреждения и гибели нейронов [9, 14]. Накопление серотонина (от 2 до 30 раз) намного меньше [14]. Однако остается неясным, является ли аккумуляция дофамина причиной или следствием повреждения нейронов.

Неселективные агонисты D<sub>2</sub>-рецепторов прамипексол, пирибедил, перголид, бромокриптин, лизурид и неселективный D<sub>2</sub>-антагонист спиперон уменьшают ишемическую гибель нейронов в стриатуме, гиппокампе и больших полушариях [7, 15]. Селективный D<sub>1</sub>-блокатор SCH 23390 как таковой и в сочетании со спипероном неактивны. Очевидно, что эти данные плохо согласуются и трудны для интерпретации. По-

мочь могло бы выявление влияния селективных лигандов дофаминовых (D-) и серотониновых (5-HT<sub>2</sub>-) рецепторов на толерантность к ишемии головного мозга (ИГМ), что представляет и более широкий интерес ввиду неизученности проблемы. Выяснение этого составило задачу настоящей работы.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проведена на 389 белых беспородных мышках обоего пола в возрасте 2,5 – 4 месяца, содержащихся в лабораторных условиях при свободном доступе к воде и пище. В работе использованы бромокриптин (“Gedeon Richter”, Венгрия), лизурид (“Schering”, Германия), апоморфин (Великобритания), миансерин (“Organon”, Нидерланды), раклоприд (“Sigma”, США). Остальные вещества — Tocris, Великобритания. Бромокриптин, лизурид, PD 168077, GR 103691, SB 204741, RS 102221 и миансерин вводили внутривентриально в виде 2,5 % суспензии на твин 80, остальные вещества — подкожно в водных растворах. Все вещества вводили в объеме 10 мл/кг. Контрольным животным вводили соответствующие растворители, различий между контрольными группами не выявлено. Дофамин, серотонин и многие их аналоги обладают выраженным антиноцицептивным эффектом [8, 10]. Дополнительное обезболивание фторотаном несколько увеличивает толерантность к ишемии в контроле (на 20 %) и в опыте (на 35 %). Использовали модель полной глобальной ишемии по Н. Lowry в моди-

<sup>1</sup> Кафедра биохимии Иркутского государственного медицинского университета, Иркутск, 664003, ул. Красного восстания, 1; e-mail: kulinsky@pp.irkutsk.ru

фикации Н. Araki [6]. Показателем нейропротекторного эффекта (НПЭ) было увеличение продолжительности гаспинга (судорожного дыхания). В контроле этот показатель высоко стабилен, воспроизводим из года в год и не зависит от времени инъекции. Адекватность модели подтверждена высоким НПЭ ингибиторных нейромедиаторов и их агонистов [3, 11], аналогичным данным при других вариантах ишемии головного мозга (ИГМ) [13]. Температуру ядра тела измеряли электротермометром ТПЭМ-1 в толстой кишке на глубине 3,5 см. Ввиду выраженных отклонений от нормального распределения данные анализировали по непараметрическому критерию U Манна-Уитни; изменения температуры — по критерию *t* Стьюдента. Рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена  $r_s$ . Описаны только значимые различия ( $p < 0,05$ ). Детали методики указаны в тексте и таблицах.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Вначале мы выявили при периферическом введении наличие умеренного (+20 – 80 %) НПЭ у неселективного  $D_{1,2}$ -агониста апоморфина и подтвердили его у  $D_2$ -агонистов бромокриптина и лизурида (табл. 1). Три селективных лиганда дофаминовых рецепторов — агонисты квинпирол ( $D_2$ ) и 7-ОН-DPAT ( $D_3$ ) и  $D_1$ -антагонист SCH 23390 несколько (+25 – 50 %) увеличивают толерантность к ИГМ. Остальные пять селективных лигандов D-рецепторов — агонисты SKF 38393 ( $D_1$ ) и PD 168077 ( $D_4$ ), блокаторы раклоприд ( $D_2$ ), GR 103691 ( $D_3$ ) и L 745870 ( $D_4$ ) и комбинация трех  $D_2$ -подобных антагонистов ( $D_2 + D_3 + D_4$ ) не активны. НПЭ невелик у селективного серотонинового 5-HT<sub>2A</sub>-антагониста кетансерина (+41 %) и неселек-

тивного 5-HT<sub>2A-C</sub>-блокатора миансерина (38 %) и отсутствует у селективных серотониновых антагонистов SB 204741 (5-HT<sub>2B</sub>) и RS 102221 (5-HT<sub>2C</sub>). При введении в мозг доз, меньших в 3 – 10 раз, воспроизведены НПЭ 4 лигандов (квинпирола, 7-ОН-DPAT, SCH 23390, кетансерина) и обнаружен НПЭ SKF 38393. Это свидетельствует о прямом действии веществ на мозг. Отметим, что во всех сериях НПЭ выражен намного меньше, чем у изученных на этой же модели глобальной ишемии аналогов ингибиторных нейромедиаторов (агонистов аденозиновых и ГАМК-рецепторов,  $\alpha_2$ -адреноцепторов) [3, 11] и нейрорептиков [4, 11] (особенно по сравнению с двумя последними). Эти результаты интересно сопоставить с уже процитированной гипотезой, согласно которой вызванная ишемией аккумуляция дофамина в головном мозге является причиной повреждения нейронов [9, 14]. Прежде всего подчеркнем, что изменение биохимического показателя, как правило, еще не говорит о его патогенетическом значении. Последнее требует применения ингибиторного (при изучении метаболизма) или лигандного/рецепторного (при изучении регуляции) анализа. Если накопление дофамина в мозге вредно, то антагонисты его рецепторов должны защищать животных, а агонисты — увеличивать повреждение и даже гибель нейронов или целого организма. Однако ситуация прямо противоположна: неселективные D-агонисты защищают, селективные агонисты ни в одном варианте не вредят (защищают или не влияют), а антагонисты трех подтипов рецепторов ( $D_2 - D_4$ ) как отдельно, так и при одновременном введении не активны ( $D_1$ -блокатор защищает только на 25 %). Следовательно, наши результаты не согласуют-

Таблица 1. Нейропротекторный и гипотермический эффекты лигандов дофаминовых и серотониновых рецепторов

Вещество	Доза, мг/кг (мкмоль/кг)	Время, ч	n	Изменение <i>t</i> , °С	Продолжительность гаспинга, с
Контроль	—	0,5 ÷ 3	89	-0,4 ± 0,1	16,0 (14 ÷ 20)
Апоморфин	5,0 (14,5)	1	17	-3,6 ± 0,3 <sup>b</sup>	21,0 (18 ÷ 31) <sup>b</sup>
Бромокриптин	20,0 (23,2)	3	7	-7,7 ± 0,9 <sup>b</sup>	30,0 (22 ÷ 45) <sup>a</sup>
Лизурид	1,0 (1,6)	1	10	-4,1 ± 0,4 <sup>b</sup>	19,0 (16 ÷ 21) <sup>b</sup>
SKF 38393	0,2 ÷ 10,0 (0,46 ÷ 23,0)	0,5 ÷ 2	30	0,2 ± 0,1	16,0 (14 ÷ 19)
Квинпирол	5,0 (16,2)	1	8	-5,7 ± 0,4 <sup>b</sup>	24,0 (18 ÷ 27) <sup>b</sup>
7-ОН-DPAT	3,0 (6,9)	1	8	-4,4 ± 0,3 <sup>b</sup>	20,0 (16 ÷ 26) <sup>b</sup>
PD 168077	0,04 ÷ 10,0 (0,06 ÷ 16,0)	0,5 ÷ 3	37	-0,5 ± 0,2	17,0 (14 ÷ 19)
SCH 23390	5,0 (13,7)	1	7	-1,7 ± 0,3 <sup>b</sup>	20,0 (17 ÷ 22) <sup>b</sup>
Раклоприд	0,05 ÷ 5,0 (0,07 ÷ 7,0)	0,5 ÷ 2	59	-0,4 ± 0,1	16,0 (14 ÷ 19)
GR 103691	1,0 ÷ 10,0 (2,1 ÷ 21,0)	1 ÷ 1,5	22	-1,3 ± 0,2 <sup>b</sup>	17,0 (15 ÷ 20)
L 745870	0,04 ÷ 5,0 (0,07 ÷ 8,5)	0,5 ÷ 2	21	-0,2 ± 0,2	15,0 (14 ÷ 19)
Кетансерин	10,0 (13,3)	1	8	-4,9 ± 0,6 <sup>b</sup>	22,5 (20 ÷ 32) <sup>b</sup>
SB 204741	5,0 ÷ 10,0 (17,5 ÷ 34,9)	1 ÷ 2	10	-1,1 ± 0,4	16,5 (14 ÷ 19)
RS 102221	2,0 (2,9)	1	6	-0,7 ± 0,2 <sup>b</sup>	17,5 (13 ÷ 18)
Миансерин	20,0 (58,4)	1,5	7	-5,3 ± 0,6	22,0 (16 ÷ 31) <sup>a</sup>

**Примечание.** Здесь и в табл. 2 приведены медианы и децили ( $D_1 - D_9$ ) продолжительности гаспинга (в с). Значимость различий с контролем: <sup>a</sup> —  $p < 0,05$ , <sup>b</sup> —  $p < 0,01$ , <sup>c</sup> —  $p < 0,001$ ; *n* — количество животных.

ся с обсуждаемой гипотезой. Возможно, что аккумуляция дофамина — не причина, а результат ИГМ. Эта возможность признается и в наиболее серьезном анализе гипотезы: “трудно различить причину и эффект” [14]. Добавим, что аккумуляция дофамина происходит во время самой ишемии — в первые минуты (при этом растет отношение дофамин/серотонин), затем поддерживается и постепенно уменьшается (быстрее, чем глутамат), а при реперфузии уровень дофамина обычно снижается [14]. В то же время активные формы кислорода, которые относят к главным причинам повреждения мозга, в основном накапливаются именно при реперфузии [1, 16].

Учитывая участие  $D_2$ -подобных ( $D_2 - D_4$ ) и  $5\text{-HT}_{2A}$ -рецепторов в антипсихотическом действии нейролептиков [5, 12] и много более высокий НПЭ последних [4, 11] по сравнению с селективными лигандами тех же рецепторов, мы изучили одновременное введение нескольких антагонистов (табл. 2). Активность сочетания кетансерина с  $D$ -антагонистами SCH ( $D_1$ ), раклопридом ( $D_2$ ) или L 745870 ( $D_4$ ) значимо выше, чем в контроле, но не отличается от эффекта одного кетансерина ( $p > 0,2$ ). Добавление  $D_3$ -антагониста GR 103691 к кетансерину не только значительно превосходит контроль (+88 %), но и усиливает действие кетансерина ( $p < 0,05$ ). Еще сильнее защищает головной мозг одновременное введение четырех лигандов — кетансерин +  $D_2 + D_3 + D_4$ -блокаторы (+134 % к контролю, +97 % к сумме  $D_2 - D_4$ ). Такой НПЭ не уступает флуфеназину и выше, чем у пимозиды и дроперидола (+29 – 34 %) (у сульпирида, тиаприда и спиперона НПЭ не обнаружен), но намного ниже, чем у 9 нейролептиков (+168 – 517 %) [4]. Последнее, очевид-

но, связано с комплексностью действия нейролептиков — вовлечением ими многих и разных нейромедиаторных механизмов. Это относится не только к их основной — антипсихотической активности [5, 12], но и к увеличению НПЭ.

Во всех сериях со значимым НПЭ закономерно развивалась гипотермия, при ее отсутствии НПЭ не изменялся. Обе активности совпадают у 8 из 15 изученных лигандов: апомофина, квинпирила, кетансерина, миансерина, бромокриптина, лизурида, 7-ОН-DPAT, SCH 23390, но значимая корреляция ( $r_s = -0,70 - 0,83$ ,  $p < 0,05$ ) характерна только для четырех первых. Однако при объединении материала выявлена тесная корреляция НПЭ и гипотермии в группах  $D_2$ -неселективных агонистов,  $D_{1-4}$ -селективных агонистов,  $D_{1-4}$ -селективных антагонистов,  $5\text{-HT}_{2}$ -блокаторов ( $r_s = -0,66 - 0,82$ ,  $p < 0,001$ ) и всех комбинаций кетансерина с  $D_2$ -подобными блокаторами ( $r_s = -0,89$ ). Выявление значимости может быть связано с увеличением размера серий. Наши результаты свидетельствуют о включении указанными лигандами толерантной стратегии организма [2].

## ВЫВОДЫ

1. Селективные агонисты и антагонисты дофаминовых рецепторов и антагонисты серотониновых  $5\text{-HT}_{2}$ -рецепторов при ишемии мозга обладают небольшим защитным действием или лишены его.

2. Одновременное введение  $D_3$ -антагониста GR 103641 и особенно трех  $D_{2-4}$ -антагонистов значительно усиливает нейропротекторный эффект  $5\text{-HT}_{2A}$ -антагониста кетансерина. Это свидетельствует о возмож-

Таблица 2. Нейропротекторный эффект совместного введения кетансерина и антагонистов дофаминовых рецепторов

Вещество	Доза, мг/кг (мкмоль/кг)	Время, ч	<i>n</i>	Изменение <i>t</i> , °С	Продолжительность гаспинга, с
Контроль	—	0,5 ÷ 3	89	—0,4 ± 0,1	16,0 (14 ÷ 20)
Кетансерин	10,0 (13,3)	1	8	—4,9 ± 0,6 <sup>в</sup>	22,5 (20 ÷ 32) <sup>в</sup>
Кетансерин + SCH 23390	10,0 (13,3) 5,0 (13,7)	1	6	—6,2 ± 0,9 <sup>в</sup>	24,5 (23 ÷ 49) <sup>в</sup>
Кетансерин + Раклоприд	10,0 (13,3) 5,0 (7,0)	1	7	—3,5 ± 0,4 <sup>в</sup>	23,0 (20 ÷ 55) <sup>в</sup>
Кетансерин + GR 103691	10,0 (13,3) 5,0 (10,5)	1	6	—5,9 ± 0,6 <sup>в</sup>	30,0 (22 ÷ 38) <sup>в*</sup>
Кетансерин + L 745870	10,0 (13,3) 5,0 (8,5)	1	6	—4,7 ± 0,3 <sup>в</sup>	24,5 (23 ÷ 30) <sup>в</sup>
Раклоприд + GR 103691 + L 745870	5,0 (7,0) 5,0 (10,5) 5,0 (8,5)	1,5	6	—1,9 ± 0,4 <sup>а</sup>	19,0 (17 ÷ 24)
Кетансерин	10,0 (13,3)	1,5	6	—2,3 ± 0,6 <sup>в</sup>	20,5 (19 ÷ 25) <sup>в</sup>
Кетансерин + Раклоприд + GR 103691 + L 745870	10,0 (13,3) 5,0 (7,0) 5,0 (10,5) 5,0 (8,5)	1,5	6	—7,0 ± 0,7 <sup>в*</sup>	37,5 (20 ÷ 45) <sup>в*</sup>

Примечание. Значимость различий: <sup>в\*</sup> —  $p < 0,001$  к контролю и <sup>в</sup> —  $p < 0,05$  в сравнении с кетансеринем.

ности увеличения толерантности к ишемии головного мозга совместной блокадой дофаминовых и серотониновых рецепторов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Болдырев, *Биохимия*, **60**(11), 1536 – 1542 (1995); *Со-рос. образов. ж.*, № 4, 21 – 28 (2001).
2. В. И. Кулинский, И. А. Ольховский, *Усп. соврем. биол.*, **112**(5 – 6), 697 – 714 (1992).
3. В. И. Кулинский, *Вестн. РАМН*, № 9, 39 – 43 (2000).
4. В. И. Кулинский, С. С. Гаврилов, *Экспер. и клин. фармакол.*, **69**(4), 19 – 22 (2006).
5. К. С. Раевский, *Экспер. и клин. фармакол.*, **66**(2), 6 – 9 (2003).
6. Н. Araki, I. Korasawa, M. Nojiri, and H. Aihara, *Find Exp Clin Pharmacol.*, **10**(6), 349 – 356 (1988).
7. B. Delbarre, G. Delbarre, C. Rochat, and F. Calinon, *Mol. Chem. Neuropathol.*, **26**(1), 43 – 52 (1995).
8. N. Hagelberg, S. K. Jaaskelainen, I. K. Martikainen, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **500**(1 – 3), 187 – 192 (2004).
9. S. Hashimi-Idrissi, A. Van Hemekrijck, A. Michotte, et al., *Brain Res.*, **1019**(1 – 2), 217 – 225 (2004).
10. M. Kesim, E. N. Duman, M. Kadioglu, et al., *J. Pharmacol. Sci.*, **97**(1), 61 – 66 (2005).
11. V. I. Kulinsky, L. N. Minakina, T. V. Gavrilina, S. S. Gavrilov, et al., *Hypothermia for acute brain damage. Pathomechanism and practical aspects*, N. Hayashi, R. Bullock, D. W. Dietrich, et al. (ed.), Springer Verlag, Tokyo (2004), pp. 41 – 46.
12. H. Y. Meltzer, Z. Li, Y. Kaneda, and J. Ichikawa, *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **27**(7), 1159 – 1172 (2003).
13. *Neuroprotective agents and cerebral ischemia*, A. R. Green, A. J. Gross (eds.), Acad. Press, Int. Rev. Neurobiol., vol. 40 (1997).
14. T. P. Obrenovitch and D. A. Richards, *Cardiovasc. Brain Metab. Rev.*, **7**(1), 1 – 54 (1995).
15. M. J. O'Neill, C. A. Hicks, M. A. Ward, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **352**(1), 37 – 46 (1998).
16. E. M. Park, J. H. Choi, J. S. Park, et al., *Brain Res. Protoc.*, **6**(1), 25 – 32 (2000).

Поступила 23.06.06

## INFLUENCE OF THE SELECTIVE LIGANDS OF DOPAMINE AND 5-HYDROXYTRYPTAMINE RECEPTORS ON THE TOLERANCE TO GLOBAL CEREBRAL ISCHEMIA

V. I. Kulinskii and S. S. Gavrilov

Department of Biochemistry, Irkutsk State Medical University, Irkutsk, 664003, Russia  
e-mail: kulinsky@pp.irkutsk.ru

Selective dopamine (D) receptor agonists either slightly improve (D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub>) or do not affect (D<sub>1</sub> and D<sub>4</sub>) the tolerance of the brain to global ischemia. As for D and 5-HT (hydroxytryptamine) antagonists, only D<sub>1</sub> antagonist SCH 23390 and 5-HT<sub>2</sub> antagonist ketanserin produce a small neuroprotective effect, while D<sub>2</sub>, D<sub>4</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> antagonists are not active. Simultaneous injection of D<sub>2</sub> (raclopride), D<sub>3</sub> (GR 103691), and D<sub>4</sub> (L 745870) receptor blockers also does not protect the brain. These results are not at variance with a widespread hypothesis that the accumulation of extracellular 5-HT and especially D in the brain causes the neuron damage. The effect of ketanserin is not increased by D<sub>2</sub> or D<sub>4</sub> blockers, but the introduction of D<sub>3</sub> blocker GR 103691 (+88 %) and especially the simultaneous injection of D<sub>2,3,4</sub> antagonists improve the effect of ketanserin (+134 %). The neuroprotective effect of the last combination is not lower but even exceeds that of some neuroleptics. This fact shows the possibility to increase the tolerance to cerebral ischemia by simultaneously blocking D and 5-HT-receptors.