

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АНТИАМНЕСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ “БЫСТРЫХ” БЛОКАТОРОВ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ И ПОЛИАМИНОВ

В. Е. Гмиро¹, А. В. Журавский², И. В. Комиссаров², В. Н. Тихонов²

В экспериментах на крысах показано, что ИЭМ-1460, ИЭМ-1490 и ИЭМ-1755 — бис-аммонийные адамантил-содержащие соединения, обладающие быстрой кинетикой блокады каналов NMDA-рецепторов, и полиамины (спермин, аркаин) не нарушают приобретения навыка пассивного избегания. Вызываемые скополамином или электрошоком нарушения памяти они устраняют с разной степенью эффективности: ИЭМ-1755 устраняет амнезию, вызванную электрошоком, но усиливает скополаминую. Аркаин действует кратковременно и в узком диапазоне доз, он устраняет антиамнестический эффект ИЭМ-1460. Предполагается, что в основе антиамнестического действия обеих групп веществ лежит способность замедлять десенситизацию NMDA-рецепторов.

Ключевые слова: память, амнезия, спермин, “быстрые” блокаторы каналов NMDA-рецепторов

ВВЕДЕНИЕ

Блокаторы открытых каналов NMDA-рецепторов (NMDA-Rs) привлекают внимание как средства, эффективно противодействующие нейродегенеративным и эксайтотоксическим повреждениям мозга [13]. Высокоаффинные блокаторы указанных каналов фенциклидин и дизоциллин обладают, однако, наркогенным потенциалом, имеют малую широту терапевтического действия и уже в малых дозах нарушают познавательную и мыслительную деятельность [4, 14]. Негативное влияние на обучение и память не выявляется у низкоаффинных блокаторов декстрометорфана и мемантина [10, 11], обладающих быстрой кинетикой блокады/деблокады ионных каналов NMDA-Rs. Свойства “быстрых” блокаторов NMDA-активируемых рецепторно-канальных ансамблей присущи некоторым адамантил-содержащим бис-аммониевым соединениям [6], синтезированным в отделе нейрофармакологии Института экспериментальной медицины РАМН. Некоторые из этих соединений (ИЭМ-1754, -1755, -1752) оказывают противосудорожное, противоишемическое, противогипоксическое действие, снижают вызываемую NMDA летальность грызунов [1]. Вместе с тем ИЭМ-1754 и ИЭМ-1460 усиливают анальгезию и судороги, вызываемые NMDA. Оба эффекта этих веществ, а также спермина устраняются аркаином (дигуанидобутаном) [2].

Установлено, что “быстрые” блокаторы серии ИЭМ (1460, 1754 и др.) диссоциируют от субстрата каналов NMDA-Rs быстрее, чем канал успевает закрыться [6]. В результате повторяющихся переходов активирован-

ного N-метил-D-аспаратом канала в блокированную форму и обратно ($A^nR^* \leftrightarrow A^nR^*B$; здесь A — агонист, n — число его молекул, R* — NMDA-рецептор с открытым каналом, B — “быстрый” блокатор), средняя продолжительность пачек импульсов (τ_{burst}), а следовательно и число перенесенных каналом зарядов, возрастает. Это позволяет рассматривать названные лиганды канального домена NMDA-Rs скорее в качестве потенциаторов, чем блокаторов NMDA-рецепторно-канальных ансамблей. Как средства, повышающие функцию NMDA-Rs, соединения серии ИЭМ могут обладать позитивным влиянием на обучение и память.

Цель настоящего исследования состояла в оценке влияния адамантильных (Ad) производных диаминов — соединений ИЭМ-1490³, ИЭМ-1460⁴, ИЭМ-1755⁵ и структурно сходных с ними полиаминов (спермин, аркаин) на приобретение навыка пассивного избегания и антиамнестических свойств этих веществ в моделях скополаминовой и электрошоковой амнезии.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыты выполнены на беспородных белых крысах обоего пола массой 180 – 240 г (питомник Института фармакологии АМН Украины). Условную реакцию пассивного избегания (УРПИ) вырабатывали в двухкамерной установке с темным и светлым отсеками [3]. Крысе вводили растворитель (изотонический раствор NaCl) или раствор исследуемого вещества и через 30 мин помещали в светлый отсек, регистрируя в течение 3 мин число заходов в темную камеру и латенцию первого захода. По истечении 3 мин животное, находящееся в темном отсеке, подвергали электрошоковому воздействию (50 Гц, 70 В) через электродный пол и тотчас извлекали из камеры. Приобретение навыка из-

¹ Отдел нейрофармакологии (зав. — проф. А. С. Сапронов) Института экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург, 197022, Каменноостровский просп., 69/71.

² Кафедра фармакологии (зав. — проф. И. В. Комиссаров) Донецкого государственного медицинского университета, Донецк, 83003, просп. Ильича, 16.

³ $[AdCH_2N^+H_2-(CH_2)_6-N^+H_2CH_2Ad] \cdot 2Br^-$

⁴ $[Me_3N^+-(CH_2)_5-N^+H_2CH_2Ad] \cdot 2Br^-$

⁵ $[H_3N^+-(CH_2)_5-N^+H_2Ad] \cdot 2Br^-$

бегания оценивали через 60 мин и 24 ч после воздействия аверсивного стимула по увеличению латентного периода (ЛП) первого захода и уменьшению числа заходов в темный отсек. В тех же методических условиях изучали влияние веществ на вызываемую скополамином амнезию. В этой серии опытов контрольной группе крыс за 30 мин до помещения в светлый отсек вводили раствор скополамина гидробромида (1 мг/кг внутримышечно), а после нанесения болевого стимула — растворитель, введение которого крысам основных групп заменяли внутримышечной инъекцией изучаемых веществ (3 мг/кг).

Антиамнестические свойства веществ в модели электрошоковой амнезии оценивали на крысах, у которых в предшествующие опыту 2–3 дня (8–12 сеансов) формировали стойкий условный рефлекс активного избегания (УРАИ) путем сочетания условного сигнала (звонок, 15 с) с болевым раздражением лап электрическим током (50 Гц, 60 В, 10 с). В опыт отбирали крыс с латентным периодом УРАИ менее 5 с. Электроконвульсивный шок вызывали воздействием электрического тока (50 Гц, 50 мА; 0,5 с) через накладываемые на уши электроды. Исследуемые вещества вводили тотчас после шока. Воспроизводимость УРАИ определяли через 1 и 24 ч. Вероятность нулевой гипотезы оценивали с использованием критерия Стьюдента или точного метода Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ИЭМ-1460 в дозе 1 мг/кг и спермин (3 мг/кг) повышают ориентировочную активность крыс. Это проявляется существенно меньшим временем первого захода в темный отсек и большим числом заходов в него

(до обучения) по сравнению с соответствующими поведенческими параметрами контрольных животных (табл. 1). Однократное электроболевое воздействие на крыс, находящихся в темном отсеке, сопровождалось у контрольной группы животных приобретением навыка избегания темной камеры (см. табл. 1). Ни одно из исследованных веществ не влияло на приобретение и сохранность (в течение 24 ч) приобретенного навыка. Однако в тех же методических условиях скополамин (2 мг/кг) полностью подавлял УРПИ (см. табл. 1). Отсутствие влияния исследуемых веществ на обучаемость навыку пассивного избегания не является следствием их недостаточного всасывания или непрохождения гемато-энцефалического барьера, поскольку большинство этих веществ эффективны в моделях электросудорожной (табл. 2) и/или скополаминовой (рисунок) амнезии.

На рисунке видно, что приобретаемый животными контрольной группы навык пассивного избегания не воспроизводится, если до обучения крысам вводили скополамин (1 мг/кг). Однако вызываемая скополамином амнезия не развивается у животных, которым тотчас после обучения инъекцировали ИЭМ-1490, ИЭМ-1460 или спермин. ИЭМ-1755, напротив, через 1 ч после введения усиливает амнезирующий эффект скополамина (см. рисунок). Спермин является позитивно модулирующим лигандом (“агонистом”) полиамин-связывающих сайтов NMDA-Rs [15], что может быть основой его антиамнестического действия. Известно, что спермин устраняет амнезию, вызываемую конкурентным блокатором NMDA-Rs (CPP, 9 мг/кг) [9]. Микроинъекцированный в дорсальный гиппокамп крыс (10 мкг с каждой стороны), спермидин тоже

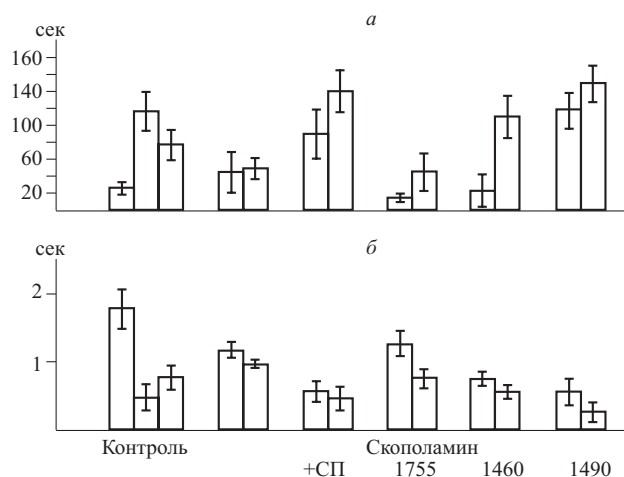
Таблица 1. Влияние соединений серии ИЭМ и полиаминов на УРПИ у крыс ($M \pm m$)

Вещество, доза, мг/кг	Количество крыс в группе	Латенция первого захода в темный отсек, с			Число заходов в темный отсек		
		до обучения	после обучения через		до обучения	после обучения через	
			60 мин	24 ч		60 мин	24 ч
Контроль (растворитель)	23	35 ± 5,9	132 ± 16,9 [#]	84 ± 17,5 [#]	1,30 ± 0,11	0,31 ± 0,1 [#]	0,7 ± 0,14 [#]
ИЭМ-1460, 0,3	8	23 ± 2,5	151 ± 19,6	142 ± 24,5	1,12 ± 0,12	0,37 ± 0,26	0,25 ± 0,16
1	8	15 ± 4,4*	75 ± 30,6	58 ± 27,0	2,12 ± 0,22*	0,75 ± 0,25	0,87 ± 0,22
3	8	40 ± 20,4	107 ± 27,2	79 ± 29,7	1,25 ± 0,16	0,75 ± 0,25	0,87 ± 0,29
ИЭМ-1490, 3	9	28 ± 4,0	166 ± 14,0	161 ± 19,1	1,20 ± 0,13	0,42 ± 0,17	0,60 ± 0,22
ИЭМ-1755, 3	12	22 ± 3,0	164 ± 13,2	173 ± 7,1	1,10 ± 0,12	0,40 ± 0,14	0,47 ± 0,17
Спермин, 0,3	8	39 ± 7,1	143 ± 24,0	123 ± 28,0	1,20 ± 0,12	0,25 ± 0,16	0,37 ± 0,18
1	8	24 ± 4,9	123 ± 27,5	120 ± 27,7	1,37 ± 0,37	0,50 ± 0,26	0,75 ± 0,31
3	8	15 ± 4,0*	144 ± 24,0	161 ± 19,0	2,02 ± 0,15*	0,63 ± 0,21	0,70 ± 0,18
10	10	39 ± 9,0	138 ± 17,0	156 ± 16,0	1,30 ± 0,15	0,55 ± 0,16	0,48 ± 0,16
Аркаин, 1	18	62 ± 15,0	180 ± 0	125 ± 18,0	1,20 ± 0,10	0,41 ± 0,17	0,44 ± 0,12
3	10	66 ± 19,0	174 ± 6,0	168 ± 12,0	1,11 ± 0,20	0,50 ± 0,21	0,39 ± 0,11
Скополамин, 2	8	21 ± 2,1	13,7 ± 3,6*	31,2 ± 7,2*	1,1 ± 0,14	1,4 ± 0,29*	1,4 ± 0,20*

Примечание. Различия статистически значимы: [#] — латенции первого захода и числа заходов в темный отсек до и после обучения в контрольной группе крыс ($p < 0,05$); * — в опыте (введение веществ) и в контроле (введение растворителя) ($p < 0,05$).

устраняет нарушения рабочей памяти, вызываемые микроинъекцией скополамина (3,2 мкг) в ту же область мозга [7]. Феноменологически влияние спермина, ИЭМ-1490 и ИЭМ-1460 на вызываемую скополамином амнезию УРПИ весьма сходно (см. рисунок).

В условиях “жесткой” модели электросудорожной амнезии антиамнестический эффект отчетливо проявляется при введении сразу после электрошока ИЭМ-1460 (1 – 10 мг/кг) и спермина (1 – 3 мг/кг). В указанных дозах эти вещества увеличивают число крыс, воспроизводящих УРАИ через 1 и 24 ч после электрошока (табл. 2). Антиамнестический эффект ИЭМ-1490 и ИЭМ-1755 выявляется только при регистрации УРАИ через 1 ч после электрошока. Аналогичный эффект аркаина наблюдается лишь при умеренных дозах (1 – 3 мг/кг). При более высоких дозах (10 – 20 мг/кг) и в более отдаленные сроки (24 ч) антиамнестический эффект аркаина отсутствует (см. табл. 2). Поскольку в высоких дозах аркаин не обнаруживает антиамнестического эффекта, который наблюдается при умеренных дозах, его быстро преходящий эффект обусловлен не высокой скоростью элиминации, но иной причиной. Как парциальный конкурентный блокатор полиамин-связывающих сайтов NMDA-Rs, аркаин при низких концентрациях может обнаруживать сперминоподобные свойства позитивного модулятора NMDA-Rs [15]. Эти его свойства, вероятно, служат основой описанного антиамнестического эффекта аркаина, который при высоких дозах и в более отдаленные сроки выступает в роли блокатора спермин-связывающих сайтов NMDA-Rs. Принадлежность ИЭМ-1490 и особенно ИЭМ-1755 к парциальным агонистам полиамин-связывающих мест



Влияние спермина и соединений серии ИЭМ на вызываемую скополамином амнезию.

Латентное время первого захода (а) и число заходов (б) в темный отсек в контроле (растворитель) и в опытах; спермин (СП) и другие вещества в дозе 3 мг/кг. Три столбика в контроле — средние значения регистрируемых параметров до, через 1 и 24 ч после обучения; пары столбиков отражают те же параметры через 1 и 24 ч после обучения. Вертикальные линии — доверительный интервал средних при $p = 0,05$ и $n = 8 - 10$.

NMDA-Rs может объяснить кратковременность антиамнестического эффекта этих соединений. О возможности совпадения мест связывания соединений серии ИЭМ с местами связывания полиаминов в NMDA-рецепторах свидетельствует способность аркаина (20 мг/кг) устранять антиамнестический эффект ИЭМ-1460 (см. табл. 2).

Совпадение мест связывания этих двух групп соединений, по-видимому, не является полным. В струк-

Таблица 2. Влияние “быстрых” блокаторов каналов NMDA-рецепторов, спермина и аркаина на амнезию, вызванную электрошоком

Вещество, доза, мг/кг	Количество крыс в группе	Количество крыс (n), воспроизводящих УРАИ после шока через			
		1 ч		24 ч	
		n	P*	n	P*
Контроль (растворитель)	31	7		11	
ИЭМ-1460, 1	8	6	0,009	6	0,046
3	8	7	0,001	6	0,046
10	8	8	0,0001	6	0,046
ИЭМ-1490, 3	8	6	0,009	4	0,24
ИЭМ-1755, 3	8	5	0,038	2	0,29
Спермин, 0,3	8	2	0,35	4	0,24
1	8	5	0,038	6	0,046
3	8	5	0,038	7	0,01
Аркаин, 0,3	8	3	0,23	4	0,23
1	8	5	0,038	5	0,12
3	8	5	0,038	5	0,12
10	8	3	0,23	4	0,24
20	8	2	0,35	4	0,24
Аркаин, 20 + ИЭМ-1460, 10	9	3	0,007**	7	0,40**

Примечание. Вероятность нулевой гипотезы, в сравнении: * — с контролем, рассчитанная по Фишеру; ** — эффектов ИЭМ-1460 (10 мг/кг), вводимого без аркаина и совместно с ним.

туре рецепторно-канальных ансамблей имеется более одного места связывания полиаминов: посредством одного из них позитивно модулирующие полиамины повышают аффинитет глицина к NMDA-рецепторам (глицин-зависимая сенситизация), через посредство другого уменьшают скорость десенситизации NMDA-Rs [5, 12]. Переводя ионные каналы NMDA-Rs в режим мерцания (см. выше), ИЭМ-1460 увеличивает продолжительность пачек импульсов (в присутствии 30 мкМ с $8,6 \pm 2,4$ до 43,6 мс [6]), фактически в 5 раз замедляя десенситизацию NMDA-Rs. Спермин тоже регулирует десенситизацию [8, 12]. Достигаемое при этом усиление функции каналов NMDA-Rs и эффективности глутаматергической передачи служит основой позитивного влияния ИЭМ-1460, ИЭМ-1490 и спермина на процессы сохранения энграмм памяти.

ВЫВОДЫ

1. “Быстрые” блокаторы каналов NMDA-рецепторов ИЭМ-1460, ИЭМ-1490 и ИЭМ-1755, а также спермин и аркаин не нарушают приобретение крысами навыка пассивного избегания.

2. Нарушения памяти, вызываемые скополамином или электроконвульсивным шоком, эти вещества устраняют с разной степенью эффективности: ИЭМ-1755 устраняет только электрошоковую амнезию, аркаин эффективен лишь в узком диапазоне доз (1 – 3 мг/кг).

3. ИЭМ-1460, ИЭМ-1490 и ИЭМ-1755 являются позитивными парциальными модуляторами NMDA/глутаматных рецепторов.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Е. Гмиро, С. Е. Сердюк, *Экспер. и клин. фармакол.*, **63**(1), 7 – 13 (2000).
2. В. Е. Гмиро, С. Е. Сердюк, *Экспер. и клин. фармакол.*, **63**(3), 16 – 20 (2000).
3. Б. И. Любимов, *Фармакол. и токсикол.*, **28**(4), 399 – 402 (1965).
4. A. C. Bartolomeo, H. Morris, J. A. Moyer, and C. A. Boats, *Soc. Neurosci. Abstr.*, **22**, 143 (1996).
5. T. D. Johnson, *Trends Pharmacol. Sci.*, **17**(1), 22 – 27 (1966).
6. J. W. Johnson, S. M. Antonov, T. A. Blandpied, and J. Li-Smering, *Excitatory Amino Acid and Synaptic Transmission*, H. Wheal and A. M. Thomson (eds.), Acad. Press, London (1995), pp. 99 – 113.
7. A. Kishi, M. Ohno, and S. Watanabe, *Brain Res.*, **793**(1 – 2), 311 – 314 (1998).
8. J. Lerma, *Neuron*, **8**, 343 – 352 (1992).
9. R. C. Meyr, D. A. Purwina, E. L. Spangler, and D. K. Ingram, *Psychopharmacology*, **35**(3), 239 – 295 (1998).
10. M. Misztal, T. Franxiewicz, C. D. Parsons, and W. Danycz, *Eur. J. Pharmacol.*, **296**(1), 1 – 8 (1996).
11. W. Muller, E. Mutschler, and P. Riederer, *Pharmacopsychiatry*, **28**(1), 113 – 124 (1995).
12. D. M. Rock and R. L. Macdonald, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **35**, 463 – 482 (1995).
13. M. A. Rogawski, *Trends Pharmacol. Sci.*, **14**(4), 325 – 331 (1993).
14. D. J. Sanger and D. Joly, *Psychopharmacology*, **104**(1), 27 – 34 (1991).
15. K. Williams, C. Romano, M. A. Dichter, and P. B. Molinoff, *Life Sci.*, **48**, 469 – 498 (1991).

Поступила 25.01.2001

A COMPARATIVE STUDY OF THE ANTIAMNESIC PROPERTIES OF FAST NMDA CHANNEL BLOCKERS AND POLYAMINES

V. E. Gmiro¹, A. V. Zhuravskii², I. V. Komissarov², and V. N. Tikhonov²

¹ Anichkov Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, Russian Academy of Medical Sciences, Kamennooostrovskii pr. 69/71, St. Petersburg, 197022 Russia;

² Pharmacology Department, Donetsk State Medical University, pr. Il'icha 16, Donetsk, 340003 Ukraine

The experiments on rats showed that IEM-1460, IEM-1490, and IEM-1755 (bisammonium adamantyl-containing compounds possessing fast NMDA channel blocking activity) and polyamines (spermine and arcain) do not alter acquiring of the passive avoidance reaction. All these compounds improve, albeit with different efficacy, the memory traces impaired by scopolamine and/or electroshock: IEM-1755 eliminated amnesia induced by the electroshock, but enhanced the amnesia evoked by scopolamine. Arcain inhibited (for a short time and in a narrow dose range) the anti-amnesic effect of IEM-1460. It is suggested that the anti-amnesic effect of compounds from both groups is related to the ability of slowing down the NMDA receptor desensitization.