

КОМБИНИРОВАННАЯ БЛОКАДА НМДА- И АМПА-РЕЦЕПТОРОВ УСТРАНЯЕТ ОСТРЫЕ КАИНАТНЫЕ СУДОРОГИ И ХРОНИЧЕСКУЮ КАИНАТНУЮ ЛЕТАЛЬНОСТЬ У КРЫС

С.Е.Сердюк, В.Е.Гмиро, О.С.Веселкина*

*ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН; *ЗАО "Вертекс", Санкт-Петербург*

Селективный блокатор НМДА-рецепторов мемантин при однократном внутримышечном введении в максимально высокой дозе 20 мг/кг подавляет острые генерализованные клонико-тонические каинатные судороги у 60% крыс, но не ослабляет клонические каинатные судороги и предупреждает хроническую каинатную летальность только у 30% крыс. Селективный блокатор АМПА-рецепторов NBQX при внутримышечном введении в дозе 10 мг/кг вызывает значительно более сильный, чем у мемантина, противосудорожный и нейропротективный эффект, поскольку устраняет генерализованные каинатные судороги у 100% крыс и хроническую каинатную летальность у 80% крыс. Однако NBQX даже в высокой дозе устраняет клонические каинатные судороги лишь у 30% крыс. Соединение ИЭМ-2121, вызывающее комбинированный блок АМПА- и НМДА-рецепторов, при внутримышечном введении в дозах 0.03-1.00 мг/кг, в отличие от NBQX, устраняет клонические каинатные судороги у 50-70% крыс, а хроническую каинатную летальность у 100% крыс.

Ключевые слова: *соединение ИЭМ-2121, NBQX, мемантин, каинат, судороги*

Первичная каинатная дегенерация лежит в основе острых клонико-тонических каинатных судорог и острой каинатной летальности, а вторичная глутаматная дегенерация ведет к развитию острых и повторных клонических каинатных судорог и также является причиной хронической каинатной летальности [4,6,9,11]. Селективные блокаторы АМПА-рецепторов эффективно устраняют первичную каинатную дегенерацию и поэтому полностью устраняют острые клонико-тонические каинатные судороги и летальность в первые 4 ч после введения каината, однако они менее эффективно подавляют вторичную дегенерацию интернейронов и пирамид гиппокампа, связанную с гиперактивацией не только АМПА-, но и НМДА-рецепторов в результате массивного выброса эндогенного глутамата с 3-х по 14-е сутки после введения каината [1,3-5,7-9].

Блокаторы НМДА значительно слабее, чем блокаторы АМПА, уменьшают тяжесть клонико-тонических каинатных судорог, поскольку ослабляют лишь вторичную глутаматную дегенерацию интернейронов и пирамид гиппокампа [3-5,10]. Влияние АМПА- и НМДА-блокаторов на клонический компонент острых каинатных судорог, а также хроническую каинатную летальность ранее не исследовалось. В то же время есть основание полагать, что комбинированная блокада АМПА- и НМДА-рецепторов является необходимым условием подавления клонического компонента острых каинатных судорог, а также полного устранения хронической каинатной летальности.

Мы синтезировали бис-катионное соединение ИЭМ-2121, терапевтической мишенью действия которого являются глутаматные ионные каналы НМДА и АМПА типа. Соответствующая величина ИК₅₀ (концентрация, в которой вещество

блокирует 50% открытых каналов) для ИЭМ-2121 составляет 3.4 мкМ для НМДА-рецепторов и 0.46 мкМ для АМПА-рецепторов [2].

Цель данного исследования — сравнительный анализ противосудорожного и нейропротективного действия селективного блокатора АМПА-рецепторов NBQX, селективного блокатора НМДА-рецепторов мемантина, а также соединения ИЭМ-2121, вызывающего комбинированный блок АМПА- и НМДА-рецепторов мозга, на модели острых каинатных судорог и хронической каинатной летальности у крыс.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на белых крысах-самцах Вистар массой 180-200 г. Опыты проводили между 10:00 и 16:00 ч. Каинат вводили внутримышечно в токсической дозе 12 мг/кг [1]. Острые каинатные судороги регистрировали в течение первых 4 ч после введения каината. Степень тяжести каинатных судорог оценивали по 5-балльной шкале: 0 — отсутствие реакции; 1 — подергивание отдельных мышц; “отряхивание мокрой собаки”; 2 — клонус передних или задних лап; 3 — сильный клонус передних и задних лап со вставанием, потеря позы; 4 — клонико-тонические судороги; 5 — тонические судороги.

В каждой группе регистрировали частоту возникновения клонических судорог (тяжесть 2-3 балла) и клонико-тонических судорог (тяжесть 4-5 баллов) в процентах от общего количества животных в группе и среднюю тяжесть судорог в баллах. Противосудорожное действие веществ оценивали по уменьшению тяжести судорог в баллах, а также уменьшению числа крыс с клоническими и клонико-тоническими судорогами по сравнению с контролем (дистиллированная вода, 0.2 мл внутримышечно).

После завершения острых судорог крыс наблюдали в течение 2 нед для определения хронической каинатной летальности, которую оценивали по числу умерших животных в группе из 5 крыс (летальность определяли в % от общего числа крыс). Нейропротективное действие веществ оценивали по уменьшению каинатной летальности крыс (в % по сравнению с контролем).

Тестируемое вещество ИЭМ-2121 [1-амино-6-(3,5-диметил-1-адамантиламино)-гексан дигидрохлорид], синтезированное в НИИ экспериментальной медицины РАМН, а также препараты сравнения NBQX и мемантин (“Sigma”), вводили крысам внутримышечно за 30 мин до каината.

Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием теста Манна—Уитни

(тяжесть каинатных судорог) и критерия Стьюдента (частота каинатных судорог и каинатная летальность).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Каинат в дозе 12 мг/кг вызывает в первые 60-80 мин локальные клонические судороги (тяжесть 2-3 балла), которые сменяются генерализованными клонико-тоническими судорогами (тяжесть 4-5 баллов) у 100% крыс. Общая длительность острых каинатных судорог не превышает 4 ч. Тяжесть каинатных судорог у крыс контрольной группы составляла в среднем 4.1 ± 0.2 балла (таблица). В течение 2 нед после введения каината в контрольной группе выжили 20% крыс, следовательно, каинатная летальность составила 80%.

Селективный НМДА-блокатор мемантин при введении в дозе 10 мг/кг полностью лишен нейропротективной активности, поскольку не уменьшает летальность крыс по сравнению с контролем в течение 2 нед после введения каината. Мемантин в указанной дозе практически не изменяет тяжести каинатных судорог и лишь в 1.4 раза ($p < 0.1$) уменьшает частоту генерализованных клонико-тонических судорог. В дозе 20 мг/кг мемантин недостоверно ($p \geq 0.1$) уменьшал тяжесть каинатных судорог и каинатную летальность (в 1.3 и 1.6 раза соответственно), но достоверно ($p < 0.05$) уменьшал частоту клонико-тонических судорог (в 3.3 раза).

Селективный АМПА-блокатор NBQX при введении в дозе 2.5 мг/кг полностью лишен противосудорожной и нейропротективной активности, так как практически не уменьшает тяжесть каинатных судорог и каинатную летальность у крыс по сравнению с контролем. NBQX в средней дозе 5 мг/кг достоверно ($p < 0.05$) уменьшает тяжесть каинатных судорог и каинатную летальность (в 1.7 раза и 2.7 раза соответственно). В указанной дозе NBQX в 5 раз уменьшает частоту клонико-тонических судорог, но не уменьшает частоту клонических каинатных судорог.

При введении в максимальной дозе 10 мг/кг NBQX вызывает наибольший противосудорожный и нейропротективный эффект: в 2.2 раза уменьшает тяжесть каинатных судорог, а также в 4 раза уменьшает каинатную летальность ($p < 0.05$). Важно отметить, что в максимальной дозе NBQX полностью устраняет генерализованные клонико-тонические судороги ($p < 0.01$), но лишь в 1.4 раза ($p \geq 0.1$) уменьшает частоту клонических судорог.

Следовательно, селективный блокатор АМПА-рецепторов NBQX в высокой дозе 10 мг/кг вызывает более сильный (в 1.6-2.0 раза), чем у мемантина,

Влияние исследуемых веществ на каинатные судороги и каинатную летальность у крыс

Вещество, мг/кг	Тяжесть каинатных судорог*	Частота каинатных судорог, %		Каинатная летальность**
		клонических ¹	клонико-тонических ²	
Вода дистиллированная (контроль)	4.1±0.4	100	100	80
Мемантин	10.0	100	70 ⁺	80
	20.0	100	30 ^o	50 ⁺
ИЭМ-2121	0.01	100	60 ⁺	80
	0.03	80	20 ^o	20 ^o
	0.1	40 ^o	0 ^x	0 ^x
	0.3	1.2 ±0.2 ^x	30 ^o	0 ^x
	1.0	1.5±0.4 ^o	50 ^o	0 ^x
NBQX	2.5	100	80	80
	5.0	100	20 ^o	30 ^o
	10.0	1.9±0.4 ^o	70 ⁺	20 ^o

Примечание. *В течение 4 ч после введения каината (12 мг/кг); **через 2 нед после введения каината. ¹Тяжесть судорог 2-3 балла; ²тяжесть судорог 4-5 баллов. * $p > 0.1$, ^o $p < 0.05$, ^x $p < 0.01$ по сравнению с контролем.

противосудорожный и нейропротективный эффект, поскольку устраняет генерализованные каинатные судороги у 100% крыс и хроническую каинатную летальность у 80% крыс, но недостаточно эффективно (лишь у 30% крыс) устраняет клонические каинатные судороги.

ИЭМ-2121 при введении в минимальной дозе 0.01 мг/кг практически не обладает противосудорожной и нейропротективной активностью. В более высокой дозе (0.03 мг/кг) ИЭМ-2121 вызывает достоверный противосудорожный и нейропротективный эффект: в 1.9 раза уменьшает тяжесть каинатных судорог, а также в 4 раза уменьшает каинатную летальность ($p < 0.05$). В указанной дозе ИЭМ-2121 полностью устраняет генерализованные клонико-тонические каинатные судороги, но недостоверно ослабляет клонические судороги лишь у 20% крыс.

При введении в дозе 0.1-0.3 мг/кг ИЭМ-2121 вызывает максимальный противосудорожный эффект: в 2.9 раза уменьшает тяжесть каинатных судорог, а также устраняет не только клонико-тонические судороги у 100% крыс, но и локальные клонические судороги у 60-70% крыс ($p < 0.05-0.01$). В указанных дозах ИЭМ-2121 обладает также максимальным нейропротективным действием, т.к. полностью устраняет каинатную летальность. Увеличение дозы с 0.3 до 1.0 мг/кг существенно не изменяет величину противосудорожной и нейропротективной активности ИЭМ-2121.

Селективный блокатор АМПА-рецепторов NBQX эффективно устраняет первичную каинатную дегенерацию, лежащую в основе острых клонико-тонических каинатных судорог, однако ме-

нее эффективно подавляет вторичную дегенерацию интернейронов и пирамид гиппокампа, связанную с гиперактивацией не только АМПА-рецепторов, но и НМДА-рецепторов эндогенным глутаматом в течение 2 нед после введения каината [1,3-6,8]. В наших экспериментах NBQX полностью подавлял эпилептогенез острых генерализованных клонико-тонических каинатных судорог, но только незначительно ослаблял развитие клонических каинатных судорог, а также не обеспечивал выживание 100% крыс с каинатной токсичностью. НМДА-блокатор мемантин лишь частично подавлял эпилептогенез острых генерализованных клонико-тонических каинатных судорог и не предупреждал хроническую каинатную летальность, связанную с активацией преимущественно АМПА-рецепторов мозга [3,5,8,10].

ИЭМ-2121, блокирующий как НМДА-, так и АМПА-рецепторы мозга, в отличие от мемантина и NBQX, подавлял развитие не только клонико-тонических, но и клонических каинатных судорог, а также предупреждал хроническую каинатную летальность у 100% крыс, по-видимому, в результате максимально полного устранения не только первичной каинатной дегенерации, но и вторичной глутаматной дегенерации нейронов гиппокампа.

Мы полагаем, что ИЭМ-2121, обладающий комбинированной НМДА- и АМПА-блокирующей активностью, можно рассматривать в качестве нового поколения высокоэффективных противосудорожных и нейропротективных средств для лечения эпилепсии, а также тяжелых ишемических и нейродегенеративных заболеваний ЦНС, в

основе которых лежит токсическое действие глутамата на АМПА- и НМДА-рецепторы мозга.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сердюк С.Е., Гмиро В.Е. // Бюл. exper. биол. 2007. Т. 143, № 5. С. 548-550.
2. Федорова И.М., Гмиро В.Е., Магазаник Л.Г., Тихонов Д.Б. // Журн. эвол. биохим. и физиол. 2008. Т. 44, № 6. С. 556-562.
3. Brandt C., Potschka H., Löscher W., Ebert U. // Neuro-science. 2003. Vol. 118, N 3. P. 727-740.
4. Ferreri G., Chimirri A., Russo E. et al. // Pharmacol. Biochem. Behav. 2004. Vol. 77, N 1. P. 85-94.
5. Kawaguchi K., Simon R.P. // Brain Res. 1997. Vol. 753, N 1. P. 152-156.
6. Lau A., Tymianski M. // Pflugers Arch. 2010. Vol. 460, N 2. P. 525-542.
7. Nonaka M., Kohmura E., Yamashita T. et al. // Brain Res. Mol. Brain Res. 1998. Vol. 55, N 1. P. 54-60.
8. Rogawski M.A., Donevan S.D. // Adv. Neurol. 1999. Vol. 79. P. 947-963.
9. Schauwecker P.E. // Exp. Neurol. 2010. Vol. 224, N 1. P. 207-218.
10. Stafstrom C.E., Tandon P., Hori A. et al. // Epilepsy Res. 1997. Vol. 26, N 2. P. 335-344.
11. Wang Q., Yu S., Simonyi A. et al. // Mol. Neurobiol. 2005. Vol. 31, N 1-3. P. 3-16.

Получено 14.01.13
