

N-АЦЕТИЛСЕРОТОНИН И ГИПОТЕНЗИВНЫЙ ЭФФЕКТ ИНГИБИТОРОВ MAO-A (МИНИ-ОБЗОР).

Г.Ф. ОКСЕНКРУГ

Отдел Психиатрии, Медицинский Центр Ст. Елизабет, Университет Тафтса, Бостон,
Массачусетс, США

Pineal Research Laboratory, Department of Psychiatry, St. Elizabeth's Medical Center,
Tufts University, Boston, Mass., USA

Идея изменчивости, а следовательно и избирательности аминоксидаз, известная мне благодаря работам Владимира Зиновьевича Горкина и личному общению с ним, значительно повлияла на ход исследования механизма стимулирующего действия ингибиторов MAO на эпифизарный синтез мелатонина из серотонина. Мы обнаружили, что этот эффект связан с торможением активности MAO-A, а не MAO-B, которое первично приводит к увеличению образования N-ацетилсеротонина, и, вторично - к повышению уровня мелатонина. Эпифизэктомия предупреждала гипотензивный эффект хлоргиллина, что позволило предположить, что стимулирование синтеза N-АС (и/или мелатонина) может играть роль в гипотензивном эффекте избирательных ингибиторов MAO-A. Базальный и стимулированный изопротеренолом уровень N-АС, но не мелатонина, оказались ниже у крыс со спонтанной гипертензией, чем у нормотензивных крыс. Этот эффект усиливался предварительным введением ингибитора превращения N-АС в мелатонин, а также удалением эпифиза.

Мы показали, что N-АС обладает гипотензивным эффектом, не зависящим от мелатонина. Полагаем, что снижение кровяного давления, вызываемое торможением MAO-A, зависит от повышения уровня N-АС, а не мелатонина. Возрастное снижение синтеза N-АС из серотонина может способствовать возрастному повышению кровяного давления. Наши данные обосновывают необходимость клинического испытания гипотензивного эффекта N-АС.

Ключевые слова: N-ацетилсеротонин, ингибиторы MAO-A, эпифиз, эпифизэктомия, гипотензивный эффект

Впервые я услышал о Владимире Зиновьевиче Горкине 30 лет тому назад, когда был аспирантом проф. И.П. Лапина, который всегда отзывался о Владимире Зиновьевиче с большим уважением. И.П. Лапин посоветовал направить Владимиру Зиновьевичу (как редактору журнала "Вопросы Медицинской Химии") машинопись моей первой "в счет" диссертации статьи, которая довольно быстро была опубликована. Поэтому я всегда считал, что как бы получил благословение от Владимира Зиновьевича в самом начале моей научной карьеры.

Впервые я встретился с Владимиром Зиновьевичем в 1973 году в Будапеште, где я по приглашению проф. Кнолла (и после всяких "приключений") провел месяц в лаборатории проф. Мадьяра. Владимир Зиновьевич блестяще прочел лекцию в фармакологическом институте медицинского университета, после чего мне посчастливилось провести несколько часов у него в гостиничном номере. Эта встреча сыграла очень важную роль в моей жизни, так как Владимир Зиновьевич, талантливый, красивый, молодой ученый надолго остался для меня, только начинающего профессиональную жизнь, образцом для подражания. Оглядываясь назад, я думаю, что учение об анагормонах покойного Владимира Михайловича Дильмана, у которого я работал сразу после окончания медицинского

института, в какой-то степени подготовило меня к восприятию идей Владимира Зиновьевича. Хотя в то время моноаминоксидазы не представляли для меня большого интереса, мое "знакомство" с идеями Владимира Зиновьевича об изменчивости MAO сыграло впоследствии решающую роль в моих исследованиях в области мелатонина. Я усвоил, конечно, только общую концепцию, что субстратная специфичность MAO не "высечена в камне", и что, теоретически, каждый субстрат может иметь свою "собственную" MAO. В то время, я еще не знал про MAO-A и B, но, согласно теории Владимира Зиновьевича, предполагал существование "серотониновой", "норадреналиновой", и т.д. MAO.

Когда 10 лет спустя я заинтересовался проблемой фармакологической стимуляции синтеза мелатонина (в то время единственно известным способом повышения уровня мелатонина у человека было многочасовое упражнение на велоэргометре), стимуляция синтеза мелатонина в эпифизах крыс была обнаружена после введения как ингибиторов MAO-B, так и ингибиторов MAO-A [1].

Учитывая, что серотонин является субстратом синтеза мелатонина, а норадреналин стимулирует первую реакцию этого процесса (N-ацетилирование серотонина с образованием N-ацетилсеротонина, N-AC), следовало ожидать, что ингибирование MAO-A, но не MAO-B, должно стимулировать синтез мелатонина в шишковидной железе (эпифизе). Идея изменчивости (а, следовательно, и избирательности) MAO, известная мне благодаря работам Владимира Зиновьевича и личному общению с ним, заставила меня вновь исследовать влияние ингибиторов MAO-A и B на синтез мелатонина. Мне очень повезло, что это решение получило поддержку у проф. S. Gershon и моих коллег: д-ра R. McCauley, который занимался исследованиями молекулярных различий между MAO-A и B, и д-ра I. McIntyre, наладившего метод определения мелатонина, N-AC и других эпифизарных индолов при помощи высокоразрешающей жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектором. В отличие от [1] мы одновременно с исследованием синтеза мелатонина определяли и активность MAO-A и B, учитывая, что избирательность ингибиторов MAO-B исчезает с увеличением дозы препарата. Нам удалось показать, что уровень мелатонина и его предшественника, N-AC, в эпифизах крыс повышался в результате торможения MAO-A, вызываемого избирательным MAO-A ингибитором, хлоргилином, а также высокими дозами ингибитора MAO-B, депренила [2]. Впоследствии, стимуляция синтеза мелатонина ингибиторами MAO-A, но не ингибиторами MAO-B, была показана как для необратимых, так и для обратимых ингибиторов *in vivo* и *in vitro* опытах на крысах, а также на обезьянах, и у здоровых добровольцев и депрессивных больных.

С клинической точки зрения хотелось бы подчеркнуть различие между ингибированием (торможением) MAO-A (или MAO-B) и ингибиторами MAO-A (или B): торможение MAO-A может быть достигнуто при помощи как избирательных ингибиторов MAO-A (таких как, хлоргилин, моклобемид, брофаромин, бифлоксатон), так и при помощи смешанных (неизбирательных) ингибиторов (ниамид, фенелзин, транилципрамин), и даже при помощи избирательных MAO-B ингибиторов (паргилин, фенелзин), утрачивающих свою избирательность с увеличением доз. Только высоко избирательный MAO-B ингибитор Ro-19 6327 не тормозил MAO-A даже в больших дозах и, соответственно, не стимулировал синтез мелатонина [4].

Избирательность MAO-A ингибиторов выявляется не только в отношении синтеза мелатонина, но и его поведенческих эффектов. Так, ингибиторы MAO-A, но не MAO-B, потенцировали седативный эффект мелатонина у лягушки [4]. Поскольку "лягушачий" тест является одним из скрининговых тестов для антидепрессантов [6], эти результаты согласуются с клиническими наблюдениями об антидепрессивном эффекте ингибиторов MAO-A, но не MAO-B.

Клинически ингибиторы МАО-А, в отличие от ингибиторов МАО-В, обладают, кроме антидепрессивного, еще и гипотензивным действием. С психофармакологической точки зрения последний является побочным эффектом, нередко ограничивающим применение ингибиторов МАО, особенно у больных старше 60 лет. Поскольку эпифизэктомия вызывала повышение кровяного давления, было предположено, что мелатонин является эндогенным гипотензивным фактором [7]. Учитывая, что стимуляция синтеза мелатонина и гипотензивный эффект характерны для ингибиторов МАО-А (но не В), мы предположили, что гипотензивный эффект ингибиторов МАО-А может зависеть от стимуляции синтеза мелатонина, вызываемого торможением МАО-А. Это предположение подтвердилось результатами наших опытов, в которых гипотензивный эффект хлоргилина значительно ослаблялся у эпифизэктомизированных крыс [8]. Следует отметить, что, как мы установили ранее, механизм стимулирующего эффекта хлоргилина (как и других ингибиторов МАО-А) на синтез мелатонина связан с предотвращением дезаминирования норадреналина (а не с серотонина, уровень которого обычно превышает необходимый для обеспечения синтеза мелатонина) [3]. Повышенный уровень норадреналина, способного стимулировать эпифизарные β_1 -адренорецепторы, приводит к увеличению образования N-ацетилтрансферазы, катализирующей превращение серотонина в N-АС, с последующим повышением образования мелатонина. Таким образом, торможение МАО-А приводит к повышенному образованию не только мелатонина, но и, прежде всего, его предшественника, N-АС. Учитывая, что удаление эпифиза предотвращает зависящее от торможения МАО-А образование как N-АС, так и мелатонина, мы предположили, что ослабление гипотензивного действия хлоргилина у эпифизэктомизированных крыс может быть связано не только с недостатком мелатонина, но и N-АС.

Дальнейшее исследование механизма гипотензивного действия ингибиторов МАО-А, было в основном проведено в нашей лаборатории д-ром Requitina на крысах, рождающихся с нормальным кровяным давлением, но у которых гипертензия спонтанно развивается к 12 недели их жизни [9]. Спонтанно гипертензивные крысы (СГК) наиболее широко используются, как экспериментальная модель гипертонической болезни человека.

Исследование N-АС и мелатонина выявило возрастные различия в содержании N-АС, но не мелатонина у СГК, но не у генетически близких к СГК, но не развивающих гипертонию, Вистар-Киото крыс. Ночное содержание N-АС в эпифизах 4-недельных (нормотензивных) СГК оказалось выше, чем у 12-недельных (гипертензивных) СГК [10]. Подобные возрастные различия наблюдались и в ответ на введение изопротеренола, агониста β_1 -адренорецепторов, вызывающего повышение N-ацетилтрансферазы у СГК по сравнению с крысами Вистар-Киото [11]. Содержание N-АС после введения изопротеренола (0,5 мг/кг, подкожно) было выше у 4-недельных (с нормальным кровяным давлением) чем у 12-недельных (с повышенным кровяным давлением) СГК крыс, в то время как степень вызываемой изопротеренолом стимуляции продукции N-АС оказалась одинаковой у 4- и 12-недельных крыс Вистар-Киото (Табл. 1) (Oxenkrug and Requitina, in press).

Сходные возрастные (коррелирующие с развитием гипертензии) различия исходного и стимулированного изопротеренолом уровня N-АС у СГК крыс, позволили нам предположить, что N-АС обладает эффектом, противодействующим развитию гипертензии у СГК, и что гипотензивный эффект торможения МАО-А может зависеть от способности ингибиторов МАО-А стимулировать образование N-АС в эпифизах СГК крыс.

Наши последующие опыты показали, что N-АС обладает гипотензивным эффектом, более выраженным у эпифизэктомизированных СГК крыс (Табл. 2). Отсутствие эпифиза может усиливать эффект N-АС поскольку у интактных крыс N-АС довольно быстро превращается в мелатонин [12]. Торможение метаболизма N-АС в мелатонин при помощи S-

аденозин-гомоцистеина (S-АГ), ингибитора метилирования N-АС, потенцировало гипотензивный эффект N-АС у СГК (Табл. 2).

Таблица 1. Влияние изопротеренола (изо) на N-АС и мелатонин у 4- и 12-недельных крыс СГК и крыс Вистар-Киото (ВКК).

| | 4-нед СГК | 4-нед ВКК | 12-нед СГК | 12-нед ВКК |
|-------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| N-АС контр. | 0,15 ± 0,01 | <0,15 | 0,15 ± 0,02 | <0,15 |
| N-АС изо. | 2,28 ± 0,40 | 1,58 ± 0,33* | 1,74 ± 0,23* | 1,85 ± 0,23 |
| МЕЛ контр. | 0,28 ± 0,04 | 0,18 ± 0,05 | 0,08 ± 0,02 | 0,08 ± 0,01 |
| МЕЛ изо. | 1,07 ± 0,17 | 1,15 ± 0,20 | 0,96 ± 0,18 | 1,18 ± 0,02 |

Изопротеренол (0,5 мг/кг,) за 60 мин до декапитации.

*) $p < 0,01$ по сравнению с СПС 4-нед-изо.

**) $p < 0,03$ по сравнению с 4-нед-изо (t-тест Стьюдента).

Таблица 2. Влияние N-ацетилсеротонина на систолическое кровяное давление (мм Hg) у крыс со спонтанно развившейся гипертензией (СГК).

| | Ложно-оперированные крысы | | Эпифизэктомированные крысы | |
|-------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------|
| | давление до N-АС | давление после N-АС | давление до N-АС | давление после N-АС |
| N-АС | 221 ± 21,25** | 195 ± 19,79 ^a | 210 ± 11,55* | 174 ± 9,17# |
| S-АГ + N-АС | 211,67 ± 12,13* | 158,33 ± 6,87 | 205 ± 18,03* | 167,33 ± 5,73 |

* $p < 0,0001$, ** $p < 0,04$ по сравнению с показаниями после введения препаратов;

$p < 0,03$ по сравнению с соответствующей группой ложно-оперированных крыс; ^a $p < 0,001$ по сравнению с S-АГ + N-АС. S-АГ - S-аденозин-гомоцистеин. В каждой группе по 6 крыс. S-АН (30 мг/кг внутривенно) вводили за 30 мин до N-АС (30 мг/кг, подкожно). Систолическое кровяное давление (мм Hg) измеряли при помощи манжетки на хвосте крысы.

Заключая этот мини-обзор последних исследований нашей лаборатории, хотелось бы еще раз подчеркнуть, что совершенно неожиданное для нас выявление гипотензивного действия N-АС возможно не состоялось бы без теории Владимира Зинивьевича Горкина об изменчивости MAO.

Автор глубоко признателен prof. A. Yuwiler за постоянную поддержку и сотрудничество.

ЛИТЕРАТУРА

1. King, T.S., Ricardson, B.A., Reiter, R.J. (1982) Molecular and Cellular Endocrinol. 25, 327-328
2. Oxenkrug, G., McCauley, R., McIntyre, I., Filipowicz, C. (1984). J. Pharm. Pharmac. 36: 55W
3. Oxenkrug G.F. (1991) In: 5-Hydroxytryptamine and Mental Illness. Coppen A, Sandler M and Harnett S (eds). Oxford Univ. Press, pp.99-108

4. *Requintina P.J., Oxenkrug G.F., Yuwiler A., and Oxenkrug A.G.* (1994) *J. Neural Transm.* 41 (S): 141-144
5. *Lapin I.P. and Oxenkrug G.F.* (1970) *J. Pharm. Pharmac.* 22: 781-782
6. *Skene D.J. and Potgieter B.* (1981) *S. African J. Sci.* 77:180-182
7. *Karppanen, H.* (1974) Studies on pinealectome-induced hypertension in rats, Doctoral Thesis, Helsinki.
8. *Oxenkrug, G.F., McCauley, R.B., Fontana, D.J., McIntyre, I.M., Commissaris, R.L.* (1986) *J. Neural Transm.*, 66:71-280
9. *Okamoto K. and Aoki K.* (1963) *Jpn Circ. J.*, 27: 282-293
10. *Oxenkrug, G.F., Requintina P.J.* (1992) *Biol. Psychiat.*, 31:373
11. *Illnerova, H., Albrecht, I.* (1975) *Experientia*, 31: 95-96
12. *Oxenkrug G.F. and Requintina P.J.* (1994) *In. J. Neurosci.*, 77: 237-241

N-ACETYLSEROTONIN AND THE HYPOTENSIVE EFFECT OF MAO-A INHIBITORS

G.F.OXENKRUG

Pineal Research Laboratory, Department of Psychiatry, St. Elizabeth's Medical Center, Tufts University, Boston, Mass., USA

Vladimir Zinovievich Gorkin's theory of the transformation of catalytic activity of amine oxidases and, thereby, selectivity of amine oxidases, carried over from my personal acquaintance with Vladimir Zinovievich, significantly influenced our studies into the mechanism of MAO-induced stimulation of pineal melatonin biosynthesis from serotonin.

We found that this effect depended on the selective inhibition of MAO-A, but not MAO-B, which resulted in the increased formation of N-acetylserotonin (N-AS), the intermediate precursor of melatonin. The hypotensive effect of clorgyline was attenuated by pinealectomy, suggesting that increased N-AS and/or production might contribute to the hypotensive effect of selective MAO-A inhibition. Basal and isoproterenol-induced pineal levels of N-AS, but not melatonin, were lower in 12 week old (hypertensive) than in 4 week old (normotensive) spontaneously hypertensive (SHR) rats.

N-AS decreased blood pressure in 12 week old SHR rats. The hypotensive effect of N-AS was augmented by pinealectomy and by pretreatment with the S-adenosylhomocysteine, the inhibitor of N-AS conversion into melatonin.

Our data demonstrate that hypotensive effect of N-AS is independent of its conversion to melatonin. We suggest that hypotensive effect of selective MAO-A inhibition might depend on the increased formation of N-AS, but not melatonin. The age-associated decrease in N-AS production may contribute to the developing of hypertension in SHR rats, and the age-associated increase of blood pressure in humans. Our data warrant the clinical trial of N-AS for the treatment of essential hypertension.

Key Words: N-acetylserotonin, monoamine oxidase A, pineal gland, hypertension.