

ГАМК-ЕРГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА В ЗАЩИТЕ ОТ ВОЗБУЖДАЮЩИХ КИНУРЕНИНОВ

И.П.ЛАПИН

Психоневрологический институт им. В.М.Бехтерева,
193019, Санкт-Петербург, ул.Бехтерева 3, Россия. Факс: (812)567-71-27

Защита от возбуждающего действия L-кинуренина и хинолиновой кислоты у мышей связана с активацией ГАМК-В и дофаминовых рецепторов головного мозга и в значительно меньшей степени с активацией ГАМК-А рецепторов. Противосудорожный эффект фенибута, баклофена, оксибутрата натрия и таурина против судорог, вызванных этими двумя кинуренинами, вряд ли зависит от изменений обмена ГАМК.

Ключевые слова: ГАМК, кинуренины, фенибут, баклофен, ГОМК., таурин.

ВВЕДЕНИЕ. Предложение поделить результаты и идеями ко дню рождения В.З.Горкина - одно из самых желанных и почетных, потому что безгранична благодарность Владимиру Зиновьевичу за вдохновлявший нас его интерес к нашей работе, за постоянную товарищескую поддержку и ободрение, за редкостную доброту и приветливость на протяжении четверти века.

Для нас, сотрудников лаборатории психофармакологии, созданной в 1960 году на заре этой науки, а потому делавших первые шаги по целине всех ее областей, такое отношение было особенно значимым и ценным. В.З. - один из первых, кто сразу оценил новизну, масштаб и перспективность возникшего в начале 70-х годов направления - *Нейроактивность кинуренинов*. В.З. тогда еще не был лично знаком ни с кем из нас, область эта была вне его непосредственных научных интересов, и тем не менее он с энтузиазмом поддержал первые эксперименты нашей лаборатории. Из них и развилось это направление. По его инициативе в 1976 году по результатам начального этапа наших опытов был подготовлен первый в мировой литературе обзор о нейроактивных кинуренинах: "Кинурениновый путь обмена триптофана и его роль в функции нервной системы и в действии психотропных препаратов" для Журнала Всесоюзного химического общества им. Д.И.Менделеева [1]. Сейчас количество публикаций по этой проблеме превышает несколько сотен. Слова "кинуренины", "кинуренин", "хинолиновая кислота", "кинуреновая кислота" стали ключевыми для рубрик "Current Contents" и других библиографических изданий.

Нельзя не подчеркнуть, что эта новая область не была вотчиной В.З., и это говорило о том, как много у него валентностей в научных интересах и организаторской активности, как бескорыстна щедрость в товарищеской поддержке коллег и общего дела.

О последнем свидетельствует и совершенно уникальный эпизод в нашей научной жизни. Осенью 62-го года ко мне пришло неофициальное письмо от В.З.Горкина. С ним я не был знаком. Имя знал только из литературы. Это письмо положило начало нашей многолетней научной переписке и встречам в лаборатории Института биологической и медицинской химии АМН на Погодинской в свободной и легкой товарищеской обстановке. Мы обсуждали "с карандашом в руках" многие запутанные проблемы биохимии моноаминов и биохимической психофармакологии, часто находили новые методические подходы,

оказавшиеся решающими для ответа на ключевые вопросы. В том письме В.З. представил себя как *рецензента* нашей с Р.А.Хауниной статьи о влиянии имипрамина на активность МАО головного мозга в журнале "Вопросы медицинской химии". Просил ответить на два частных вопроса по методике (мы упустили эти детали) и добавил, что после получения ответа одобрит ее опубликование [2]. Никогда никто больше не "раскрыл" себя как рецензента, иными словами не предпочел товарищескую доброжелательность и быструю помощь коллеге.

Тема статьи выбрана потому, что возбуждающие кинуренины (основные метаболиты триптофана): L-кинуренин (КИН), 3-окси-КИН (3-ОН-КИН) и хинолиновая кислота (ХИК), сейчас рассматривают как значимых участников патогенеза тревожных состояний [3-7], депрессий [8-10], эпилепсии [11-15], алкогольного абстинентного синдрома [15,16], расстройств сна [16], дегенеративных неврологических заболеваний [17]. КИН - предшественник более активных как возбуждающих (3-ОН-КИН и ХИК), так и тормозящих (кинуреновая и никотиновая кислоты) метаболитов, и поэтому от их соотношения, возникающего после введения КИН, зависит интегральный эффект - возбуждение или торможение, в частности противосудорожный эффект [15].

Защитные механизмы против возбуждающих кинуренинов все еще не установлены, несмотря на интенсивные поиски последних лет. Естественно, что особенный интерес привлекают вероятные *эндогенные* антагонисты кинуренинов [3,12,13,14,15]. Среди них экспериментально наиболее обоснованы и перспективны гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) и близкие ей по физиологическим эффектам аминокислоты таурин и глицин [14,15].

Введение в желудочки мозга (в/ж) мышам КИН и ХИК в дозах, вызывающих генерализованные судороги, сопровождалось снижением активности глутамат декарбоксилазы (ГДК) и ГАМК-трансаминазы (ГАМК-Т) головного мозга [18], что может свидетельствовать о замедлении оборота ГАМК и уменьшении функциональной активности ГАМК-ергических терминалей. ГАМК (в/ж) и проникающие в мозг производные ГАМК (системно): фенибут (ФЕН), баклофен (БАК) - агонисты ГАМК-В рецепторов, оксibuтират натрия (ГОМК) и другие предупреждали или ослабляли судороги, вызванные КИН и ХИК [11,12,14,15]. Таурин (ТАУ), системно и в/ж, избирательно противодействовал кинурениновым судорогам [19].

ФЕН [20] и БАК [21] эффективны в клинике как анксиолитики. Их противотревожное действие установлено и на моделях тревоги, вызванной на мышах КИН и ХИК [4,6,7], а также следовым моноамином - β -фенилэтиламином, вероятным эндогенным анксиогеном [22,14,23].

КИН и эталон бензодиазепиновых анксиолитиков диазепам (ДЗП) имеют много сходства в стереоконфигурации [3]. Судороги, вызванные КИН, уникально резистентны к ДЗП [12,14,15], и оба эти факта позволили предположить, что КИН принадлежит к эндогенным агонистам ГАМК-бензодиазепиновых рецепторов (БДЗР) и может конкурировать с ДЗП [3,5]. Прямое определение радиоактивного связывания установило, что КИН и ХИК не тормозят базальное связывание [^3H]-флуниотразепама, но уменьшают прирост связывания, вызванный пентобарбиталом. Анализ Скэтчарда показал, что этот эффект связан со снижением аффинности БДЗР [24]. Так появился еще один объект исследования механизма возбуждающего действия КИН и ХИК - пикротоксин-барбитуратная субъединица БДЗР. Данные фармакологических опытов, полученные раньше и независимо от определений радиолигандного связывания факты также направляли внимание на эту субъединицу. Пикротоксин резко отличался от всех конвульсантов тем, что обладал наиболее сильным синергизмом с КИН и ХИК, а против вызываемых им судорог были особенно эффективны

ФЕН, БАК, метаболиты триптофана на поздних этапах кинуренинового пути кинуреновая и пиколиновая кислоты, известные антагонисты КИН и ХИК [25].

Помимо сходств у КИН и ХИК были выявлены и принципиальные различия в механизмах действия. Только ХИК связывается с NMDA рецептором, его глициновой субъединицей [15, 17]. Эта локализация действия ХИК здесь не рассматривается, так как не относится прямо к теме статьи.

Специальные серии наших опытов были выполнены для ответа на вопрос, связано ли противокинурениновое действие названных выше функциональных антагонистов КИН и ХИК с их воздействием на ГАМК-ергическую систему головного мозга.

МЕТОДИКА. В опытах, выполненных на беспородных мышах самцах (из питомника Рапполово) в осенние и зимние месяцы, когда все испытанные средства оказались менее активными, чем прежде, внутрибрюшинно вводили следующие препараты в дозах (мг/кг), эффективных именно в этот сезон против КИН-судорог: ФЕН и ГОМК (300, вместо обычной 200), БАК (30, вместо обычной 20), ТАУ (300, вместо обычных 100 и 200). Декапитацию производили через 30 мин. Концентрацию ГАМК и активность ГДК и ГАМК-Т в гомогенате полушарий мозга определяли (опыты З.С. Никитиной) по методике, описанной ранее [18]. В каждый день биохимического определения был установлен фармакологический контроль эффективности каждого фармакологического препарата (тот же раствор). КИН и ХИК, соответственно 50 и 5 мкг, вводили полуавтоматическим аппаратом бодрствующим животным через 30 мин после препаратов. В опытах с коразолом (КОР - 40 мг/кг, п/к), взятом для сравнения с эндогенными конвульсантами КИН и ХИК, ДЗП (1 и 2 мг/кг, в/б) вводили за 30 мин. до КОР, бикуккулин (БКК) - эталонный антагонист ГАМК-А рецепторов, в стандартных дозах 0,5 и 1 мг/кг, п/к за 15 мин. до КОР. Регистрировали латентный период генерализованных клонических судорог, количество животных с тонической экстензией и летальность. В группах было 20-30 мышей. Достоверность различий между группами оценивали по критериям тестов Т (Стьюдента), U (Манна-Уитни) и хи-квадрат.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Предварительное введение ФЕН, БАК, ГОМК и ТАУ больше, чем наполовину уменьшало количество животных с клоническими судорогами и практически полностью предупреждало тоническую экстензию и летальность.

ОБМЕН ГАМК?

Сопоставление данных биохимических определений и фармакологических опытов в один и тот же день показало, что только в случае ГОМК противосудорожный эффект наблюдается лишь в те дни, когда имеются сразу два биохимических сдвига: достоверное повышение активности ГДК (на 47 % контроля) и концентрации ГАМК (на 13 %). Остальные препараты не изменяли активности ГДК и ГАМК-Т. Концентрация ГАМК несколько повышалась (достоверно при $p < 0,05$) после введения БАК, ГОМК и ТАУ - соответственно на 4,2, 9,1 и 7,6 % контроля. Не отмечено достоверных различий в биохимических сдвигах в дни, когда была защита или ее не было.

Так как не найдено совпадений между результатами биохимических определений и фармакологических опытов по защите от судорог в одни и те же дни, вряд ли противосудорожные эффекты ФЕН, БАК, ГОМК и ТАУ против КИН связаны с изменениями в обмене ГАМК.

ГАМК-А РЕЦЕПТОРЫ?

БКК(1 мг/кг) усиливал судороги, вызванные пороговой дозой КОР(в контроле у 3 животных из 30 развились клонические судороги, в опыте - у 24 из 30), но не равноэффективной дозой КИН. БКК (0,5 мг/кг) снимал противосудорожное действие ФЕН и БАК против КИН, но не защитное действие ДЗП против КОР.

Если принять общепринятое, что БКК - избирательный антагонист ГАМК-А рецепторов, логично допустить, что судорожный эффект КОР, но не КИН, связан с воздействием на ГАМК-А рецепторы. Однако противокоразоловый защитный эффект ДЗП, как это не выглядит странно, не определяется его воздействием на эти рецепторы.

ГАМК-В РЕЦЕПТОРЫ?

В противосудорожный эффект типичных агонистов ГАМК-В рецепторов ФЕН и БАК, поскольку он устранялся БКК, вероятно, вовлечены, помимо ГАМК-В, и ГАМК-А рецепторы. Или следует допустить, что БКК - антагонист не только ГАМК-А, но и ГАМК-В рецепторов, и поэтому он ослабляет защитное действие ФЕН и БАК.

Противосудорожный (против КИН, 3-ОН-КИН и ХИК) и седативный эффекты ФЕН и БАК уменьшались предварительным введением блокатора дофаминовых рецепторов галоперидола и разрушением дофаминергических нейронов головного мозга введением в желудочки мозга мыши 6-ОН-дофамина [20]. Норадренергические нейроны были сохранены благодаря введению до 6-ОН-дофамина деметилимипрамина, препятствующего проникновению 6-ОН-дофамина в эти нейроны. Введение в желудочки мозга дофамина устраняло действие галоперидола, что подтверждало предположение о том, что оно определяется блокадой дофаминовых рецепторов. Противокоразоловый эффект ДЗП и судорожный эффект КОР не изменялись ни галоперидолом, ни 6-ОН-дофамином. Эти факты наводят на мысль, что ГАМК-В, но не ГАМК-А, рецепторы функционально связаны с дофаминовыми рецепторами, по крайней мере в регуляции локомоторной активности и судорог. Отсюда же можно сделать вывод, что кинурениновые судороги отличаются от других тем, что в защите от них определяющее значение имеют ГАМК-В рецепторы, тогда как в защитных механизмах против КОР и других конвульсантов главную роль играют ГАМК-А рецепторы и ГАМК-бензодиазепиновый рецепторный комплекс, антагонисты которого ДЗП и другие бензодиазепины известны как универсальные антиконвульсанты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Латин И.П. // Ж. Всесоюз. хим. общ. им. Д.И.Менделеева. - 1976. - Т.21. - N 2. - С. 151-157.
2. Хаунина Р.А., Латин И.П. // Вопросы мед. химии. - 1963. - Т.9. - вып.2. - С.184-188.
3. Латин И.П. // Хим.-фарм. ж. - 1983. - N 3. - С.395-401.
4. Орликов А.Б., Латин И.П. // Эксп. и клин. фармакол. - 1993. - Т.56. - N 5. - С.59-64.
5. Lapin I.P. // Quinolinic Acid and Kynurenines (ed. Stone T.W.). - 1989. - Boca Raton, CRC Press, P.193-211.
6. Lapin I.P. // Recent Advances in Tryptophan Research. Tryptophan and Serotonin Pathways (eds. Filippini G.A., Costa C.V.L., Bertazzo A.) - 1996. - New York, Plenum Press, P.191-194.
7. Lapin I.P., Mutovkina L.G., Ryzov I.V., Mirzaev S.//J. Psychopharmacology. - 1996. - Vol.10. - P.246-249.
8. Латин И.П. // Эмоциональный стресс и пограничные нервно-психические расстройства. - Л., 1977. - С.48-53.
9. Dilman V.M., Lapin I.P., Oxenkrug G.F.// Serotonin in Health and Disease, Vol.5. Clinical Applications (ed. Essman W.B.). - 1979. - New York - Med. & Sci. Books. - P. 111-212.
10. Lapin I.P. // Pharmakopsychiatrie-Neuropsychopharmakologie. - 1973. - Vol.6. - P.273-279.

11. Латин И.П., Рыжов И.В. // Бюлл. эксп. биол. и мед. - 1983. - Т.94. - N 4. - С.53-55.
12. Рыжов И.В., Латин И.П. // Фармакол. и токсикол. - 1981. - Т.44. - N 2. - С.140-143.
13. Lapin I.P. // Trends in Pharmacol. Sci. - 1980. - Vol.1. - No. 14. - P.410-412.
14. Lapin I.P. // Epilepsia. - 1981. - Vol. 22. - P.257-265.
15. Бокий И.В., Латин И.П. Алкогольный абстинентный синдром.- Л., Медицина, 1976, 119 с.
16. Miliassius A.M., Grinevicius K-K.A., Lapin I.P. //J. Neural Transmission. - 1990. - Vol. 82. - P.67-73.
17. Reinhardt J.F., Erickson J.B., Flanagan E.M. // Advances in Pharmacology. - 1994. - Vol. 30. - P.85-128.
18. Латин И.П., Никитина З.С., Сытинский И.А. // Вопросы мед. химии. - 1981.- Т.27. - вып.1. - С.27-30.
19. Lapin I.P. // J. Neural Transmission. - 1980. - Vol. 48. - P.311-316.
20. Хаунина Р.А., Латин И.П.// Ж. невр. и психиатр.- 1989. - Т.89. - вып.4. - С.142-151.
21. Крутицкий Е.М., Бураков А.М., Иванов В.Б., Карандашова Г.Ф., Латин И.П., Гриненко А.Я., Бородкин Ю.С.// Ж. невр. и психиатр. им. С.С. Корсакова. - 1994. - Т.94. - вып. 1. - С. 57-61.
22. Латин И.П. // Фармакол. и токсикол. -1985. - Т.48.-N 4. - С.50-54.
23. Lapin I.P.// Biol. Psychiatry. - 1990. - Vol. 28. - P. 997-1003.
24. Zarkovsky A.M. // Pharmacology Biochemistry Behavior. - 1986. - Vol. 24. - P.1215-1218.
25. Латин И.П., Рыжов И.В. // Фармакол. и токсикол. -1985. - Т.48. - N 6. - С.13-17.

GABA-ERGIC SYSTEM IN PROTECTION AGAINST EXCITATORY KYNURENINES

I.P.LAPIN

Bekhterev Psychoneurological Research Institute, Saint-Petersburg 193019, Russia. Fax: 7 (812) 567-71-27

Protection against the excitatory action of L-kynurenine and quinolinic acid in mice is related to the activation of GABA-B and dopamine receptors of the brain and to much lesser degree to the activation of GABA-A receptors. It is hardly believable that the anticonvulsant effect of phenibut (β -phenyl-GABA), baclofen (CL-phenibut), sodium hydroxybutyrate and taurine against seizures induced by these two kynurenines is determined by alterations in metabolism of GABA.

Key words: GABA, kynurenines, phenibut, baclofen, hydroxybutyrate, taurine