

ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ NT-0409 И ИЗВЕСТНЫХ ПРОТИВОАЛЬЦГЕЙМЕРНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ КРЫС С ХРОНИЧЕСКИМ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИМ ДЕФИЦИТОМ В МОЗГЕ****Н.Н.Лермонтова, Т.В.Мухина, Г.И.Ванькин, Т.П.Серкова, С.О.Бачурин***Лаборатория нейрхимии Института физиологически активных веществ РАН, Черноголовка*

Системное пероральное введение новосинтезированного агониста глутаматных рецепторов AMPA-подтипа NT-0409 крысам с частичной хронической депривацией холин-ергических функций, вызванной AF64A, улучшало их обучение в водном тесте Морриса. По эффективности влияния на обучение NT-0409 близок к мемантину, и, в отличие от холиномиметика арисепта, обеспечивает более длительное сохранение выработанного навыка.

Ключевые слова: *болезнь Альцгеймера, AF64A, мемантин, арисепт, агонист AMPA-рецепторов, тест Морриса*

Болезнь Альцгеймера (БА), как правило, проявляется в пожилом возрасте, характеризуется необратимой прогрессирующей дегенерацией преимущественно ацетилхолиновых нейронов и нарушением функций других нейромедиаторных систем в мозге. В настоящее время для лечения БА используется около 10 препаратов, большинство из которых, например, арисепт, оказывает выраженное холиномиметическое действие. Препаратов, оказывающих положительное влияние на когнитивные функции через другие нейромедиаторные системы, пока мало. Успешно применяется аканитол мемантин ("Akanitol Memantine", "Merz"), который действует через глутаматные рецепторы и сочетает в себе свойства низкоаффинного неконкурентного антагониста рецепторов NMDA-подтипа и агониста рецепторов AMPA-подтипа [1]. Ранее нами установлено [3], что некоторые изотиуруниевые производные способ-

ны потенцировать активность AMPA-подтипа глутаматных рецепторов и, следовательно, могут рассматриваться в качестве потенциальных стимуляторов когнитивных функций [1]. В связи с этим представляло интерес изучить влияние одного из наиболее активных стимуляторов AMPA-рецепторов этого ряда — вещества NT-0409 на обучение животных в состоянии, близком к развитой форме БА.

Одним из применяемых способов моделирования БА на крысах являются интрацеребровентрикулярные (*i.c.v.*) инъекции нейротоксина — препарата AF64A (1-этил-1-[2-гидроксиэтил] азиридиум хлорида) [2,4,8,11], вызывающего селективное разрушение ацетилхолиновых синаптических окончаний с последующей дегенерацией нейронов и снижением содержания ацетилхолиновых маркеров гиппокампа и коры [5,6,11].

Цель настоящей работы — исследовать влияние системного введения нового соединения NT-0409 на обучение крыс с хронической депривацией холин-ергических функций, вызванной *i.c.v.* инъекциями AF64A, и сравнить его действие с действием известных препаратов, применяемых при лечении БА.

Адрес для корреспонденции: 142432 пос. Черноголовка Московской обл., Институтский просп. Институт физиологически активных веществ РАН. nnlermon@mail.ru. Лермонтова Н.Н.; bachurin@ipac.ac.ru. Бачурин С.О.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили в зимний период на крысах-самцах Вистар (питомник "Столбовая") массой 180-200 г после недельного карантина. AF64A готовили из AF64 ("Vachem") перед инъекциями по методу Фишера [5] и разводили искусственной спинномозговой жидкостью (СМЖ). Под эфирным наркозом в стереотаксисе крысам в боковые желудочки мозга инъецировали 3 нмоль AF64A в 3 мкл СМЖ, контрольным крысам — 3 мкл СМЖ. Через день после инъекции AF64A крыс делили на 4 группы. Ежедневно крысы контрольной и одной опытной групп получали перорально 1% раствор крахмала по 0.1 мл/кг. Крысам остальных опытных групп вводили по 2 мг/кг NT-0409, мемантина ("Memantine HCl", "RBI") и арисепта (лекарственная форма — "Dorezil HCl", "Pfizer"; толченые таблетки в пересчете на 2 мг/кг активного начала) соответственно в виде суспензии в 1% крахмале. Через 10 сут после начала введения веществ крыс учили находить невидимую платформу диаметром 10 см в бассейне диаметром 180 см по стандартной схеме обучающего теста Морриса [7,9]. Далее отсчет времени начинали с 1-го дня обучения. Попытки повторяли 2 раза в день с интервалом в 10 мин с 2 разных позиций. Инъекции в эти дни проводили строго через 1-1.5 ч после сеанса. В 1-й день для нахождения платформы, животным предоставляли 120 с, в последующие дни — 60 с. С 11-го по 13-й день делали перерыв, не прекращая ежедневных инъекций изучаемых препаратов. После 13-го дня инъекции и обучение прекращали, на 26-й день оценивали воспроизведение навыка. Ежедневно фиксировали летальный период (ЛП) — время, затраченное крысой на поиск платформы.

На 5, 11, 14 и 26-й дни после начала обучения с помощью аппаратно-программного комплекса "Behavioral Vision" [10] проводили видеосъемку треков и компьютерный анализ ЛП нахождения платформы, показателя "прямызны" траектории (отношение длины траектории к длине вектора, соединяющего точку старта и платформу). Суммарное расстояние до платформы рассчитывали по формуле:

$$\sqrt{\sum_{i=0}^N |R_i|},$$

где N — количество оцифрованных точек в траектории, R_i — расстояние между i -й точкой траектории и центром платформы.

Результаты представляли в виде средних значений ($M \pm m$) для каждого показателя. Данные экспериментов обрабатывали статистически с использованием дисперсионного анализа ("ANOVA") с последующим сравнением по LSD критерию.

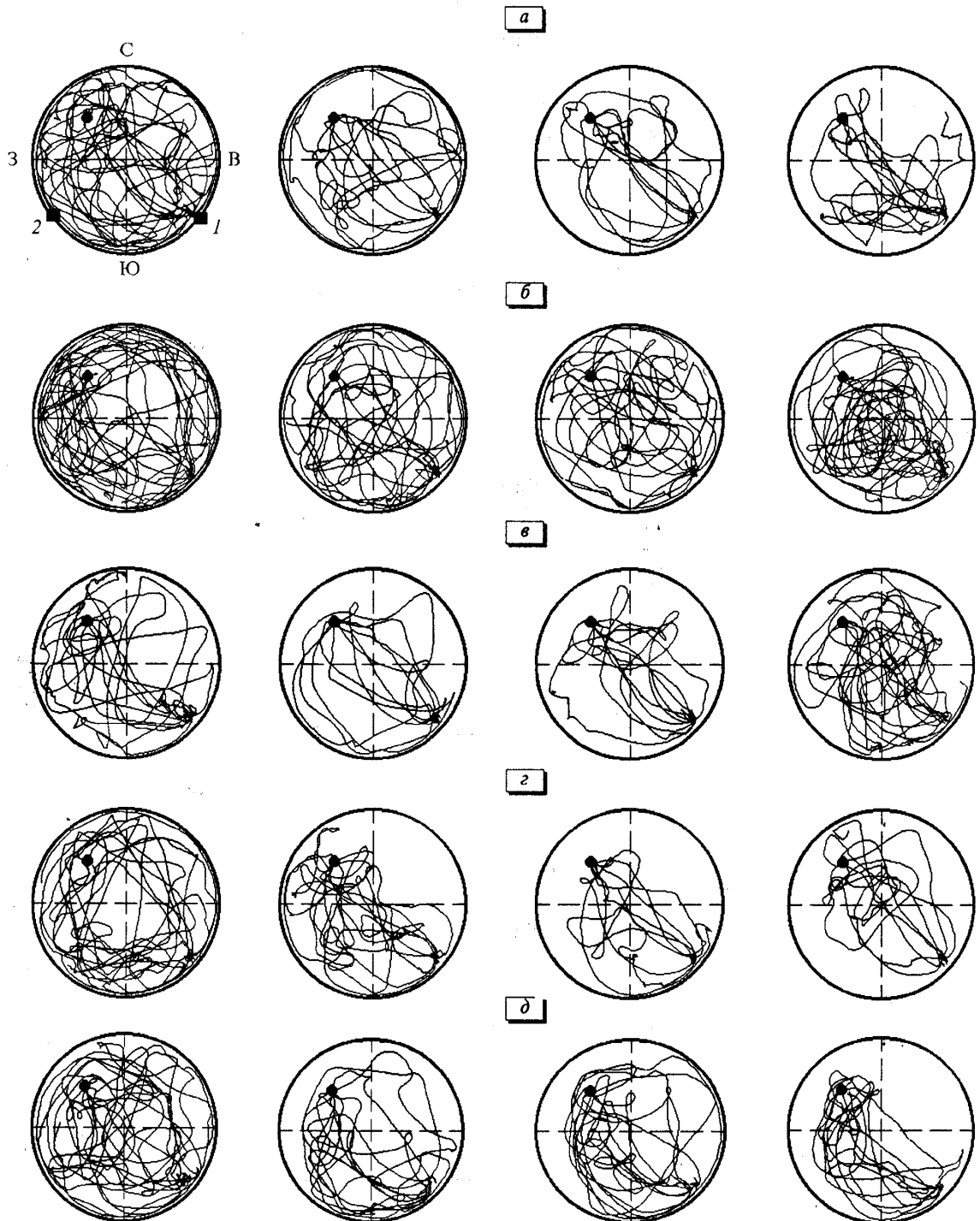
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обучение крыс в тесте Морриса основано на инстинктивном стремлении животного выбраться из воды и заключается в том, что вместо длительного безрезультатного плавания у стенок бассейна крыса уверенно плывет к невидимой под водой платформе (рисунок): Как правило, к 8-10-м суткам обучения при двух попытках в день большинство крыс находит платформу за 10-15 с [4,7,9]; после *i.c.v.* инъекций AF64A ЛП нахождения платформы значительно больше [4] и траектории поиска более хаотичны (рисунок) по сравнению с контролем.

В наших опытах показатель ЛП поиска платформы к концу обучения уменьшился во всех группах, при этом на 11-й день ЛП для групп AF64A+NT-0409 и AF64A+арисепт достоверно отличался от показателя для группы AF64A (таблица). На 11-й и 14-й дни различия ЛП у крыс группы AF64A и контрольных животных не достигали уровня статистической значимости ($p=0.077$ и $p=0.065$ соответственно), но графические отличия совокупных траекторий (рисунок) очевидны. Показатели прямызны и суммарного расстояния до платформы более достоверно отражали разницу в обученности контрольных крыс и крыс группы AF64A (таблица).

У крыс всех групп коррекции направленность поиска платформы после обучения (11-й, 14-й дни) была более выраженной по сравнению с группой AF64A (рисунок), причем отличия группы AF64A+арисепт достоверны по всем количественным показателям, а у остальных групп — лишь по некоторым (таблица). Арисепт достоверно улучшил ЛП и траекторию поиска платформы уже на 5-й день обучения. Перерыв на 2 дня после обучения на фоне продолжающегося введения веществ незначительно увеличил ЛП поиска платформы у всех крыс, но у крыс, получивших арисепт или NT-0409 ЛП был достоверно меньше, чем у крыс группы AF64A (таблица).

Через 12 дней после прекращения инъекций исследуемых веществ результаты в группе AF64A+арисепт были близки к таковым в группе AF64A, а показатели направленности поиска у групп AF64A+NT-0409 и AF64A+мемантин были лучше, чем у группы AF64A (таблица).



Изменения траектории движения в водном тесте Морриса у крыс после интрацеребровентрикулярной инъекции AF64A.

а — контроль; б — AF64A; в — AF64A+арисепт; г — AF64A+мемантин; д — AF64A+NT-0409. Кружок — положение платформы. 1, 2 — позиция запуска. Слева направо: 5, 11 (обучение), 14 (1-е воспроизведение) и 26-й (2-е воспроизведение) дни эксперимента.

Действие арисепта, мемантина и NT-0940 на обучение и воспроизведение навыка у крыс после *i.s.v.* инъекции AF64A в водном тесте Морриса (% к контролю; $M \pm m$)

Срок регистрации, дни	Контроль (n=10)	AF64A (n=10)	AF64A+арисепт (n=10)	AF64A+мемантин (n=8-9)	AF64A+NT-0409 (n=10)
5-й ЛП нахождения платформы	100.0±12.9	104.5±11.3	65.5±14.8**	74.7±17.5	82.9±14.7
показатель "прямызны"	100.3±17.8	115.6±19.8	51.9±8.6**	90.4±23.7	85.0±17.6
суммарное расстояние до платформы	100.0±8.5	109.3±8.7	80.2±11.8**	84.8±13.9	92.6±11.9
11-й ЛП нахождения платформы	100.0±32.1	163.7±28.9	63.4±9.9*	120.3±32.7	91.5±15.8**
показатель "прямызны"	100.3±32.0	150.4±34.9	63.7±15.1**	101.8±15.8	94.0±17.0
суммарное расстояние до платформы	100.0±18.8**	143.5±16.4	91.6±9.1**	109.8±17.7	101.1±11.4**
14-й ЛП нахождения платформы	100.0±34.1	173.1±27.3	88.8±14.7**	105.4±32.8	96.1±21.8**
показатель "прямызны"	100.0±17.7**	196.8±56.5	95.7±11.8**	91.4±11.3**	164.0±40.4
суммарное расстояние до платформы	100.0±17.3*	157.5±13.7	105.1±11.9**	116.9±21.6	100.1±12.2*
26-й ЛП нахождения платформы	100.0±23.8	135.8±17.9	136.2±29.2	91.8±30.8	102.8±25.7
показатель "прямызны"	100.0±21.3**	231.0±65.0	187.3±44.7	106.6±23.9**	128.5±30.8
суммарное расстояние до платформы	100.0±16.2	122.7±8.2	112.2±16.5	81.5±15.5**	92.3±12.5**

Примечание. * $p < 0.01$, ** $p < 0.05$ по сравнению с AF64A.

Таким образом, холиномиметик арисепт оказывает симптоматическое действие, довольно быстро проявляющееся при его приеме, но прекращающееся при его отмене. Эффект мемантина и NT-0409 проявляется позже, чем влияние арисепта, но их действие более продолжительно и сохраняется после отмены препарата. Поскольку в наших опытах вещества вводили через 1.0-1.5 ч после сеанса обучения, их эффекты могли проявиться в отношении консолидации памяти, однако предшествующее обучению введение веществ в течение 10 дней после инъекции AF64A могло влиять на дегенеративно-регенеративные процессы, вызванные инъекцией холинотоксина, поэтому нельзя делать однозначный вывод о положительном воздействии исследуемых веществ именно на процесс консолидации.

Условия данного эксперимента моделируют реальную клиническую ситуацию, возникающую при лечении пациентов с БА, у которых необходимо приостанавливать процессы дегенерации и восстанавливать когнитивные функции. Наблюдаемое в наших опытах действие холиномиметика арисепта адекватно примененной модели, но является симптоматическим. Длительный эффект препаратов другой медиаторной специфичности, возможно, реализуется посредством глутаматных рецепторов и затрагивает компенсаторные и/или дегенеративно-регенеративные процессы. NT-0409 (агонист глутаматных рецепторов AMPA-подтипа) в данной схеме эксперимента оказывал положительное влияние на обуче-

ние и длительное сохранение выработанного навыка у крыс с частичной хронической депривацией холинергических функций.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (грант № 00-04-398 и грант МАС № 02-04-06599) и Программы фундаментальных исследований президиума РАН "Фундаментальные науки — медицине".

ЛИТЕРАТУРА

1. Бачурин С.О. // Вопр. мед. химии. 2001. Т. 47, № 2. С. 155-197.
2. Лермонтова Н.Н., Пьчев В.К., Безноско Б.К. и др. // Бюл. экспер. биол. 2000. Т. 129, № 5. С. 525-527.
3. Bachurin S.O., Grigoriev V.V., Drany O.A. // J. Neurochem. 1999. Vol. 73, Suppl. P. 143D.
4. Bachurin S., Oxenkrug G., Lermontova N. et al. // Ann. NY Acad. Sci. 1999. Vol. 890. P. 155-166.
5. Fisher A., Hanin I. // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 1986. Vol. 26. P. 161-181.
6. Hanin I. // Life Sci. 1996. Vol. 58, N 22. P. 1955-1964.
7. Hodges H. // Brain Res. Cogn. Brain Res. 1996. Vol. 3, N 3. P. 167-187.
8. Lermontova N.N., Lukoyanov N.V., Serkova T.P. et al. // Mol. Chem. Neuropathol. 1998. Vol. 33. P. 51-61.
9. Morris R.G.M. // J. Neurosci. Methods. 1984. Vol. 11. P. 47-60.
10. Mukhina T.V., Bachurin S.O., Lermontova N.N., Zefirov N.S. // Behav. Res. Met. 2001. Vol. 33. P. 371-380.
11. Walsh T., Opello K. // Toxin-induced models of neurological disorders / Eds. M.Woodruff, A.Nonneman. N.Y., 1994. P. 259-279.

Получено 07.08.02