

УДК 636:612:398:577.1

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА ГАМК-ТРАНСАМИНАЗЫ
О-СУЛЬФОЭТАНОЛАМИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ
ГОРМОНАЛЬНО-МЕДИАТОРНОГО И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО
ОБМЕНА ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИИ

КРИМЯН А. Ю., ПОЛЬТАВЯН Т. А., АРАКЕЛЯН Л. М., КАМАЛЯН А. Р.,
АГАБАЛЯН М. Л., КАМАЛЯН Р. Г.

Ереванский государственный зооветеринарный институт

Работа посвящена изучению влияния ингибитора ГАМК-трансминазы мозга О-сульфоэтанолamina (СЭА) на метаболические показатели как у нормальных крыс, так и при на иммобилизационном стрессе.

Показано, что внутривенное введение СЭА в дозе 1 г·кг⁻¹ массы через 16 ч приводит к резкому повышению ГАМК в мозгу как интактных, так и иммобилизованных в течение 2 ч до убоя животных.

Введение препарата и в большей степени сама иммобилизация сопровождается повышением концентрации кортикостерона в крови и надпочечниках, хотя препарат ослабляет эффект иммобилизации, от есть смягчает реакцию надпочечников на стресс. При этом отмечается тенденция к накоплению энергетических субстратов в крови (глюкоза и пируват) и печени (триглицериды), что также свидетельствует о смягчении стресс-реакции и более экономном использовании источников энергии, не прослеживаются какие-либо изменения в интенсивности течения процессов ПОЛ в мозговой и печеночной тканях опытных групп животных и наблюдается некоторое уменьшение активности аспартатаминотрансферазы в мозгу иммобилизованных крыс при предварительном введении препарата.

Полученные результаты позволяют предположить об антитрессовом действии СЭА, обусловленном, по всей вероятности, генерацией ГАМК в мозгу.

Фармакопрофилактика стресса, достигаемая применением различных средств успокаивающего действия на ЦНС [1, 2], является одним из способов снижения воздействия большого числа внешних и внутренних неблагоприятных факторов на живой организм. Механизм действия последних обусловлен в основном активацией тормозных процессов в нейронах [3, 4]. Исследуемое нами производное этилоламина СЭА является ингибитором ГАМК-трансминазы [5], способствует накоплению основного тормозного медиатора ЦНС ГАМК. Использование с отмеченной целью самой ГАМК оказывается менее эффективным из-за непроницаемости или частичной проницаемости ее через ЭБВ, в то время как эти же ограничения не касаются СЭА, вызывающего более чем двукратное повышение уровня ГАМК в мозгу.

Исходя из вышесказанного, мы исследовали эффективность СЭА в качестве противострессорного препарата при иммобилизации крыс.

Материалы и методы

Эксперименты проводили на белых крысах-самцах массой 220—250 г, содержащихся на обычном нормированном рационе и укомплектованных в следующие опытные группы: I—интактный контроль, II—внутрибрюшинное введение СЭА, III—иммобилизация в течение 2-х ч, IV—иммобилизация с предварительным введением СЭА, синтезированного в Института органической химии АН Армении [6], идентифицированного по инфракрасному и ПМР спектрам, а также по биологическому тесту (повышение уровня ГАМК в мозгу).

Крысам вводили внутрибрюшинно 20%-ный водный раствор препарата из расчета 1 г/кг⁻¹ массы. Через 14 ч животных иммобилизовали помещением их в специальные пластмассовые пеналы и спустя 2 ч декалентировали под слабым эфирным наркозом и определяли содержание кортикостерона в крови и надпочечниках [7], глюкозы [8] и пирувата в крови [9], активность NADPH и аскорбат-зависимого ПОД [10] и трансаминаз [11] в гомогенатах печени и мозга, содержание липидов [12, 13] и ГАМК [14] в мозговой и печеночной тканях соответственно. Полученный материал подвергнут статистической обработке с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Представленные в табл. 1 данные свидетельствуют о том, что как иммобилизация, так и введение СЭА повышают уровень кортикостерона в крови и надпочечниках, хотя и действие последнего ока-

Таблица 1

Количественные сдвиги в содержании кортикостерона в крови (мкг%) и в надпочечниках (мкг·г⁻¹) белых крыс

Органы	Группы животных			
	1	2	3	4
Кровь	12,5±0,56	20,64±0,93*	25,50±1,59*	20,82±0,68**
Надпочечники	33,29±1,68	38,62±1,74*	44,34±2,39*	35,49±1,84**

Примечание. Здесь и в табл. 4, 5 *—достоверные сдвиги в сравнении с интактным контролем (группа 1), **—достоверные сдвиги в сравнении с иммобилизацией (группа 3).

зывается значительно слабее. Так, если иммобилизация приводит к двухкратному увеличению содержания кортикостерона в крови (12,75 и 25,50 мкг%), то введение СЭА интактным крысам сопровождается увеличением уровня гормона приблизительно на 62,5%. В надпочечниках возрастание концентрации кортикостерона при иммобилизации составляет примерно 33,2%, а при введении препарата интактным

крысам—16,0%. Характерно, что введение препарата до иммобилизации предотвращает эффект последней на уровень гормона в крови и особенно в надпочечниках, где отмечается почти полное блокирование нарастания концентрации гормона. Если рассматривать повышенный уровень кортикостерона в крови и надпочечниках как показатель интенсивности стресс-реакции, то на фоне предварительного введения СЭА обнаруживается отчетливо выраженное ослабление эффекта, но не предотвращение ответной реакции организма на иммобилизацию, что мы склонны рассматривать как оптимальный ответ с превальирующим адаптивного начала стресса, хотя и механизм действия препарата по сей день остается неразгаданным, если оставить в стороне его ГАМК-генерирующее действие и, возможно, непосредственное влияние на адаптивные механизмы. Наконец, не исключено также, что на фоне введения значительных количеств СЭА и достаточно длительной экспозиции препарата конечный результат в известной степени может быть обусловлен и эффектом этаноламина. Как уже отмечалось [15], при внутрибрюшинном введении последнего крысам, подвергшимся стрессу, в малых концентрациях имело место подавление выброса кортикостерона в кровь и синтеза его в надпочечниках.

Данные, представленные в табл. 2, показывают, что синтезированный нами препарат СЭА повышает уровень ГАМК при внутрибрюшинном введении в пределах 1,51—2,64 мкмоль·г, то есть приблизи-

Таблица 2

Содержание ГАМК (мкмоль·г ⁻¹) в мозгу белых крыс			
Группы животных			
1	2	3	4
1,51±0,08	2,61±0,11*	1,29±0,03	2,60±0,17*

тельно на 70,5%. При введении же его до иммобилизации, значительно снижающей уровень ГАМК в мозгу, отмечается почти 2-кратное возрастание концентрации медиатора. По-видимому, влияние СЭА на адаптивные механизмы, ответственные за реакцию надпочечников на стресс, обусловлено в определенной степени как генерацией ГАМК, так и других метаболитов, высвобождающихся из фермент-субстратного комплекса СЭА-ГАМК-трансаминазы [16].

Имеются данные о том, что СЭА может генерировать ГАМК не только путем ингибирования ГАМК-трансаминазы мозга, но и через активацию глутаматдекарбоксилазы [17, 18], локализованной в синапсосомах, то есть в непосредственной близости с ГАМК-ергическими нервными окончаниями. Предполагается, что фармакологическое действие ингибиторов ГАМК-трансаминазы определяется локальным увеличением ГАМК в отдельных нервных окончаниях, отличаю-

щихся чувствительностью к вышеуказанным соединениям, в частности к СЭА [19, 20]. Таким образом, результаты экспериментов, представленные в табл. 1 и 2, позволяют говорить о противострессорной направленности эффектов СЭА, хотя мы однозначно не располагаем обуславливающими их конкретными механизмами.

Учитывая разногласия по поводу специфичности ингибирующего действия СЭА [5, 17, 21] на ГАМК-трансаминазу и возможность его влияния на другие пиридоксальные ферменты, причем противоположной направленности [17, 21], мы предприняли исследования по определению активности аспартат- и аланинаминотрансфераз в мозгу и печени крыс (табл. 3), исходя также из того, что по ряду данных эти ферменты вовлекаются в общую стрессорную реакцию [22, 23].

Таблица 3

Активность трансаминаз в органах белых крыс
(мкмоль пирувата ч⁻¹.г⁻¹)

Срганы		Г р у п п ы животных			
		1	2	3	4
Мозг	АЛГ	43,3 ± 6,0	5,30 ± 1,47	34,2 ± 3,0	28,8 ± 3,2
	АСГ	962,50 ± 77,47	983,5 ± 14,0	779,0 ± 47,2	583,5 ± 52,5
Печень	АЛТ	1750,0 ± 185,7	2116,0 ± 219,9	1550,0 ± 112,2	1583,0 ± 162,9
	АСГ	1500,0 ± 150,0	1291,0 ± 16,6	1230,0 ± 132,0	1335,0 ± 107,1

Примечание. АЛТ—аланинаминотрансфераза, АСТ—аспартатаминотрансфераза.

Как видно из результатов, представленных в табл. 3, они характеризуются значительным разбросом, но сообщают тем не менее определенную информацию о том, что иммобилизация сопровождается тенденцией к уменьшению активности в мозгу аспартатаминотрансферазы, усиливающейся, однако, введением СЭА, который сам по себе достоверных сдвигов в активности исследуемых ферментов в органах не вызывает. Под действием препарата не отмечается сдвигов и в основном энергетическом субстрате—глюкозе крови, но обнаруживается достоверное повышение содержания пирувата (табл. 4). Предварительное введение СЭА перед иммобилизацией по сравнению с введением препарата нитактным крысам приводит к повышению уровня глюкозы примерно на 33,3 и 21% по сравнению с иммобилизацией без введения препарата. В отношении количественных сдвигов пирувата эффект от иммобилизации оказывается слабее эффекта при введении препарата, что и проявляется в серии исследований «препарат+иммобилизация».

Таким образом, введение СЭА перед иммобилизацией способствует некоторому ослаблению стресс-реакции и более экономному использованию таких энергетических субстратов, как глюкоза и пируват.

Увеличение уровня глюкозы, интенсивно потребляемой мозгом, в больших количествах может быть вызвано действием СЭА, способствующего использованию и других, помимо глюкозы, эндогенных для мозга субстратов окисления. Так, например, показано [24] подавление процесса использования глюкозы срезами мозга при введении крысам СЭА, чем объясняется анорексический эффект последнего.

Таблица 4

Количественные сдвиги в содержании глюкозы и пирувата в крови белых крыс (ммоль.л⁻¹)

	Г р у п п ы ж и в о т н ы х			
	1	2	3	4
Глюкоза	5.24±0.09	5.57±0.29	6.13±0.55	7.43±0.14
Пируват	0.370±0.005	0.587±0.007*	0.45 ±0.006*	0.591±0.009**

Характерные изменения отмечаются в содержании липидных фракций печени со сдвигом в сторону образования триглицеридов, что особенно отчетливо прослеживается в группе «СЭА+иммобилизация», где по сравнению с интактной группой количество указанных соединений увеличивается приблизительно в 1,9 и 1,6 раза

Таблица 5

Содержание липидов (мг.г⁻¹ ткани) в печени белых крыс

Фракции липидов	Г р у п п ы ж и в о т н ы х			
	1	2	3	4
Фосфолипиды	9.19±0.29	8.20±0.28*	8.80±0.38	7.33±0.20**
Холестерин	1.10±0.11	1.33±0.68	1.92±0.18* p<0.02	1.93±0.05
Свободные жирные кислоты	1.83±0.70	1.53±0.18	0.93±0.10* p<0.001	1.15±0.71
Триглицериды	4.43±0.28	6.93±0.14*	5.35±0.31	8.53±0.32**
Эфиры холестерина	1.97±0.27	2.67±0.14*	2.68±0.21*	3.53±0.18**

по сравнению с группой иммобилизации (табл. 5). Этот процесс сопровождается также увеличением содержания холестерина и его эфиров и снижением концентрации фосфолипидов и свободных жирных кислот. Мы пока лишены возможности однозначно интерпретировать наблюдаемые сдвиги в изученных звеньях липидного метаболизма. Вероятнее всего, они обусловлены мобилизацией жировых депо на фоне накопления в печени триглицеридов, и, наоборот, уменьшения в

ней уровня фосфолипидов. Так или иначе, при иммобилизационном стрессе энергосберегающий эффект СЭА очевиден, что, по-видимому, является признаком оптимизации метаболизма в экстремальных условиях. Как видно из данных табл. 6, процессы ПОЛ в печени и мозгу крыс в условиях наших экспериментов не претерпевают существенных сдвигов.

Таблица 6

Количественные сдвиги в содержании малонового диальдегида (ммоль·мин⁻¹·мг⁻¹ белка) в гомогенатах мозга и печени при NADPH и аскорбатзависимом перекислении липидов

		Г р у п п ы			
		1	2	3	4
NADPH	мозг	0,93±0,07	0,92±0,06	0,93±0,07	0,91±0,13
	печень	0,78±0,09	0,79±0,07	0,73±0,05	0,67±0,08
Аскорбат	мозг	1,35±0,11	1,28±0,09	1,42±0,15	1,27±0,18
	печень	0,85±0,09	0,90±0,06	0,72±0,05	0,73±0,10

Результаты проведенных исследований позволяют заключить, что использованная нами модель иммобилизационного стресса вызывает существенные сдвиги в гормонально-энергетическом звене метаболизма, наблюдаемые при гипокниезии. Использованный нами препарат СЭА, ингибирующий ГАМК-трансаминазу мозга и повышающий в нем уровень ГАМК почти вдвое, ослабляет реакцию надпочечников на стресс, оптимизируя энергообеспечение тканей и, следовательно, может быть рекомендован в качестве мягкого стресспротекторного средства.

THE INFLUENCE OF THE O-SULFOETHANOLAMINE ON SOME HORMONAL AND METABOLIC PARAMETERS BY RATS IMMOBILISATION

KRIMIAN A. Ju., GJULBAYAZIAN T. A., ARAQUELIAN L. M., KAMALIAN A. R., AGABALIAN M. L., KAMALIAN R. G.

Zoo-veterinary Institute, Yerevan.

The influence of O-sulfoethanolamine (SEA) on some metabolic parameters affected by stress has been studied in intact and immobilized rats. The intraperitoneal administration of SEA in 1 g per kg dosage was shown to lead after 16 hours to the increase of the GABA levels in the brain of both intact rats and those immobilized 2h before the decapitation. The concentration of corti osterone in blood and suprarenal glands rised by immobilisation and SEA injection. However, the SEA pre-

vented the corticosterone increase induced by immobilisation. The tendency of energetic substrates accumulation in the blood (glucose and pruvate) and the liver (triglycerins) has been obtaine. The definite decrease in aspartate amino transferase activity in brain after the prelliminary administration of SEA has been observed. The data obtained allow to propose the presence of stress—modifying effect of SEA caused most likely by the GABA generation in brain.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Буэлама В. С. Сельское хозяйство за рубежом, № 8, с. 47—50, 1976.
2. Буэлама В. С., Мецгерков Н. П., Тауритис А. К. Ветеринария, № 8, с. 46—49, 1988.
3. Кашин А. С. Стресс животных и его фармакологическая регуляция. Барнаул, 1976.
4. Пляцenco С. И., Сидоров В. Т. Стрессы у сельскохозяйственных животных. Москва, 1987.
5. Fowler L. J., John R. A. Biochem. J., v. 130, № 2, p. 569—573, 1972.
6. Назаретян А. Х., Карапетян Л. П., Торосян Г. О. «Потребители-производители органических реактивов. Ярмарка идей», Ереван, 1989.
7. Ширинян Э. А. Лабораторное дело, № 2, с. 767—768, 1982.
8. Лукoмская Н. С., Городецкий В. К. Биохимия, т. 26, вып. 3, с. 477—482, 1961.
9. Бабаскин П. М. Лабораторное дело, № 8, с. 197—200, 1976.
10. Ernster L., Nordenbrand E.—In: Methods in Enzymology (eds R. W. Estabrook M. E. Pulman), v. 10, p. 575, 1967.
11. Reitman S., Francel S. Amer. J. Clin. Path., v. 28, p. 56—58, 1957.
12. Bragdon J. A. Biol. Chem., v. 120, p. 513—517, 1951.
13. Folch J., Less M., Stanley S. J. Biol. Chem., v. 228, № 1, p. 497—509, 1957.
14. Roberts E., Harman P. J., Frankel S. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., v. 78, p. 799—805, 1951.
15. Гюльбаязян Т. А., Камалян Р. Г. Вопр. мед. химии, т. 8, с. 47—49, 1982
16. Fowler L. J., John R. A. Biochem. J., v. 197, p. 149—154, 1981.
17. Löshner W. J. Neurochem., v. 36, № 4, p. 1521—1527, 1981.
18. Metcalfe B. W. Biochem. Pharmacol., v. 28, p. 1705—1712, 1979.
19. Ladorela M. J., Raine A., Gale K. J. Neurochem., v. 33, p. 1119—1123, 1979.
20. Löshner W. J. J. Neurochem., v. 31, № 5, p. 1603—1608, 1980.
21. Fletcher A., Fowler L. J. Biochem. Pharmacol., v. 29, № 11, p. 1451—1454, 1980.
22. Рубашкина Л. А. Автореф. канд. дис. Москва, 1974.
23. Тигранян Р. А. Гормонально-метаболический статус организма при экспериментальных воздействиях, Москва, 1990.
24. Nobrega J. N., Coscina D. V. Brain Res., v. 262, № 2, p. 243—252, 1983.

Поступила 15. XI. 1991