

6. Agarwala B.N. *Pediatr. Cardiol.*, 1988, 9 (1), 51.
7. Calubiran O.V., Jackson E., Cunha B. *Ann. Emerg. Med.*, 1990, 19 (8), 951.
8. Opal S.M., Cross A., Palmer M., Almazan R. *Arch. Intern. Med.*, 1988, 148 (3), 641.
9. Park J.W. *Pediatr. Infect. Dis.J.*, 1990, 450.
10. Scully B.E., Spriggs D., Neri H.C. *Infection*, 1987, 15 (3), 169.
11. Solorzano-Santos F., Arredondo-Garcia G.Z., Ortiz-Ibarra F.G., et.al. *Bol.Med.Hosp. Infant. Mex.*, 1990, 47 (3), 146.

УДК 547.466+616.831+547.466.3

В.П.Акопян, Г.А.Геворкян, Л.В.Едигарова

ВКЛЮЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ В БЕЛКИ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ГИПОКИНЕЗИИ И КОРРЕКЦИЯ ГАМК-ЕРГИЧЕСКИМИ СРЕДСТВАМИ

Глубокие физиологические и биохимические сдвиги, возникающие в организме в условиях ограничения двигательной активности - гипокинезии, несомненно, затрагивают и тонкие механизмы функционирования мозговой ткани.

Известно, что разгрузка мозга от нормального притока сенсорных сигналов может приводить к серьезным нарушениям нервной деятельности [3]. Организм лишается важного регулирующего влияния мышечной деятельности на функции всех систем и обмен веществ.

Главной направленностью изменений белкового обмена при гипокинезии является снижение синтеза белков при одновременном усилении их распада, т.е. преобладание катаболических процессов над анаболическими. Такая направленность изменений касается всех тканей, однако глубина проявления резко колеблется по отдельным системам.

В литературе имеются достаточно противоречивые сведения о влиянии ГАМК и пираретама на синтез белков в различных структурах головного мозга. Например, пираретам-зависимое увеличение синтеза белков описывается как фактическое увеличение захвата аминокислот тканью мозга, а не стимуляцией включения аминокислот в белки. В то же время известно о существенном ингибирующем влиянии пираретама на распад белков. Сравнительно немногочисленны исследования о влиянии гипокинезии на включение аминокислот в белки.

Целью настоящего исследования явилось изучение включения аминокислот в белки головного мозга крыс при гипокинезии и под влиянием ГАМК и пираретама.

Материал и методы

Для создания условий гипокинезии животных (белые крысы-самцы массой 200-230 г) помещали в специальные индивидуальные тесные клетки-пеналы. Эксперименты проводились на интактных животных (контроль) и на 15-е, 30-е, 45-е и 60-е сутки гипокинезии. ГАМК и пираретам вводились внутривентриально в дозе 5 мг на кг веса животного в течение 8 дней до наступления конкретного срока гипокинезии.

Путем декапитации выделяли мозг, который перфузировали 0,15 М раствором КСl, после чего помещали в инкубационную среду из расчета 2 мл среды на 1 полушарие головного мозга в присутствии 1 мкКи на 1 мл среды ¹⁴С смеси аминокислот (в эквимольных количествах). Инкубацию мозга с мечеными аминокислотами проводили при 37°С в течение 30 минут. Затем мозг промывали в холодном инкубационном буфере и гомогенизировали в небольшом количестве (до 5 мл) буфера, тотальную белковую массу осаждали добавлением 5 мл 10% раствора ТХУ. Для лучшего осаждения белков пробирку на 30 минут по-

мешали в холодильник, затем осадок отфильтровывали и брали соответствующие навески. Навески до 30-40 мг переносили во флаконы для счета и солиобилизовали в 400 мкл гиамина-10X (NEN, USA). После растворения навески добавляли 10 мл сцинтиллятора Брея [7] и уровень радиоактивности просчитывали на сцинтилляционном спектрометре SL 4221 ("Roche-Bioelectronique", France). Данные выражали в распадах в минуту на 1 мг белка.

Учитывая, что скорость захвата аминокислот сопряжена с энергетическим уровнем клетки, мы использовали энергетические субстраты (АТФ-0,2мМ, НАДФ-0,2мМ) для исключения влияния дефицита энергии на падение скорости включения меченых аминокислот в белки. Нами была проведена серия экспериментов с использованием АТФ и НАДФ в инкубационной среде. Результаты статистически обработаны по t-тесту Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Эксперименты выявили резкое падение скорости включения аминокислот в белки мозговой ткани в условиях гипокинезии по сравнению с контролем.

В ранние сроки гипокинезии (на 15-е сутки) скорость включения аминокислот снижалась на 94,6% по сравнению с контролем, на 30-е сутки она несколько нарастала, однако продолжала оставаться низкой. Обнаружив такое резкое падение скорости включения аминокислот в белки, мы решили использовать энергетические субстраты (АТФ и НАДФ) для обеспечения нормальной энергетики клетки. Известно, что синтез белка - энергозависимый процесс, а в условиях гипокинезии энергетический баланс клетки нарушен. Однако даже на фоне введения АТФ и НАДФ скорость включения аминокислот в белки на 30-е сутки гипокинезии оставалась на том же уровне - 47713 расп/мин-1/мг белка-1 с введением энергетических субстратов и 48738 расп/мин-1/мг белка-1 - без введения АТФ и НАДФ. Таким образом, скорость включения аминокислот в белки головного мозга крыс на фоне введения энергетических субстратов оставалась резко пониженной.

Обращает на себя внимание, что к 45-му дню эксперимента скорость включения аминокислот в белки несколько снижается по сравнению с 30-дневной гипокинезией (8,3%), затем, на 60-е сутки, наблюдается ее повышение (15,8%), однако по сравнению с контролем она остается резко сниженной.

Таким образом, нами установлено, что снижение скорости включения аминокислот в белки в различные сроки гипокинезии носит волнообразный характер. (таблица).

Изменение скорости включения смеси 14 C-L-аминокислот в белки ткани мозга при гипокинезии и под воздействием ГАМК и пирацетама

Препарат	Кон троль	Г И П О К И Н Е З И Я, в сут.			
		15-е	30-е	45-е	60-е
	347961,86± 33678	18499,4±1522	50989,48±5100	33677,0±3256	54166,83±5 227
		P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
ГАМК		20824,38±21 35	8293,14±796	37423,5±3547	208020,3±2 102
		P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
Пирацетам		37204,9±3657	6149,96±587	36886,73±3754	261969,52±2 4674
		P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05

Можно предположить, что влияние гипокинезии на организм является совокупностью двух факторов: собственно снижения двигательной активности и хронического стресса. Эти факторы, тесно переплетаясь, наслаиваются один на другой, так что практически довольно трудно вычленить действие каждого из них в отдельности [5].

По современным представлениям [3], основной причиной снижения синтеза белков при гипокинезии является нарушение метаболизма ДНК и особенно РНК на этапе транскрипции. Аfferентные сигналы, поступающие в ЦНС от работающих мышц, стимулируют нервную трофику, оказывающую адаптивно-трофическое влияние на все ткани. Торможение биосинтеза ДНК в свою очередь тормозит ее обновление, и по своему нуклеотидному составу она оказывается более "старой". Вполне вероятно, что это может сказаться на ее свойствах, в частности, на способности передачи белок-синтезирующей информации.

Известно, что генетический аппарат нервных клеток у гипокинетичных животных репрессирован белками в большей степени, чем у интактных [3], и, следовательно, их матричная активность снижена. Постоянная нервная импульсация с работающих мышц, несомненно, способствует дерепрессии структурных генов и активизированию транскрипции. При гипокинезии этот механизм значительно ослаблен, что и является одной из причин подавления синтеза белков. Наряду с этой ведущей причиной снижению синтеза белков способствует уменьшение фонда свободных аминокислот в тканях в среднем на 20 % от исходного уровня [5]. Не менее существенным фактором является нарушение нормальных соотношений в содержании каждой из аминокислот, участвующих в синтезе белков.

Свободные аминокислоты в условиях гипокинезии используются для синтеза углеводов при интенсификации глюкокортикоидами процессов глюконеогенеза [6], а также в повышенных количествах выделяются с мочой.

Обращает на себя внимание влияние экзогенно введенной ГАМК. Установлено, что на 15-е сутки гипокинезии введение ГАМК сопровождается нарастанием количества РНК и белка в клетках головного мозга, а скорость включения аминокислот увеличивается на 13% по сравнению с тем же сроком ограничения двигательной активности, достигая $20824,38 \text{ расп/мин-1 /мг-1}$ белка.

По сравнению с ГАМК введение пирacetama дает более выраженный эффект - скорость включения аминокислот возрастает на 101 %, количество РНК и белка также значительно выше. Пирacetam обладает выраженной способностью повышать нарушенный в условиях гипокинезии синтез ДНК, РНК и протеинов, что улучшает создание информационных макромолекул [8, 2] (таблица).

Предполагается, что активность пирacetama связана с его способностью увеличивать скорость оборота АТФ и РНК [5]. А в условиях гипокинезии резко угнетается энергетика клетки, что может оказывать ингибирующее влияние на синтез белков. Возможно, положительный эффект применяемых нами препаратов объясняется ингибирующим влиянием пирacetama на активность лизосомальных ферментов, воздействующих на скорость включения меченого лейцина в мозг крыс [9].

Интересно, что при введении ГАМК и пирacetama на 30-е сутки гипокинезии в наших экспериментах наблюдалось обратное явление - падение скорости включения аминокислот в белки. Полученные данные можно объяснить факторами снижения содержания РНК и свободных аминокислот, наблюдаемых на срезах головного мозга крыс в указанные сроки гипокинезии.

Ряд авторов пирacetam-зависимое увеличение синтеза белка связывают именно с увеличением захвата свободных аминокислот мозговой тканью, а не стимуляцией включения аминокислот в белки мозга [10].

Необходимо отметить, что в поздние сроки гипокинезии (45-е и 60-е сутки), когда определяется увеличение РНК в мозговой ткани, а содержание белка носит мозаичный характер, мы опять наблюдали отчетливое увеличение скорости включения аминокислот в белки мозговой ткани.

Таким образом, результаты наших исследований позволили установить резкое снижение скорости включения аминокислот в белки головного мозга крыс в условиях гипокинезии, которое поддавалось коррекции ноотропными препаратами (кроме 30-го дня гипокинезии).

Кафедра фармакологии ЕрМИ

Поступила 3.05.1993г.

Վ.Փ.Հակոբյան,Գ.Ա.Գևորգյան,Լ.Վ.Եդիգարովա

ՀԻՊՈԿԻՆԵԶԻԱՅԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ ԱՄԻՆԱԹՔՈՒՆԵՐԻ ՄՈՒՏՔԸ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԳԼԽՈՒՂԵՂԻ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ՄԵՋ ԵՎ ՆՐԱ ԿԱՐԳԱՎՈՐՈՒՄԸ ԳԱԿԹ-ԷՐԳԻԿ ՄԻՋՈՑՆԵՐՈՎ

Հիպոկինեզիայի պայմաններում ուսումնասիրված է ԳԱԿԹ-էրգիկ միացությունների ազդեցությունը գլխուղեղի սպիտակուցներում նշագրված ամինաթթուների մուտքի արագության վրա: Հայտնաբերված է առնետների գլխուղեղի սպիտակուցների մեջ ամինաթթուների մուտքի արագության կտրուկ իջեցումն հիպոկինեզիայի բոլոր փուլերում: Այն ենթարկվում է կարգավորման նոտրոպ միջոցների օգտագործմամբ:

V.P.Hakopian, G.A.Gevorgian, L.V.Yedigarova

THE PARTICIPATION OF AMINOACIDS IN THE PROTEINS OF RAT BRAIN IN HYPOKINESIA CONDITION AND CORRECTION WITH GABA-ERGIC REMEDIES

We have investigated the influence of GABA-ergic remedies on the rate of explication of marked aminoacids in the proteins of rat in hypokinesia condition. We determined that the rate of the aminoacids explication in the proteins of rat brain sharply decreased in all periods of hypokinesia. The use of nootropic drugs corrected that alteration.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атьков О.Ю., Бедненко В.С. Гипокинезия и невесомость. М., 1989.
2. Ковалев Г.В. Ноотропные средства. Волгоград, 1991.
3. Лобзин В.С., Михайленко А.А., Панов А.Г. Клиническая нейрофизиология и патология гипокинезии. Л., 1979.
4. Тигранян Р.А. Гормонально-метаболический статус организма при экстремальных воздействиях. М., 1990.
5. Тунева С., Тенчева Ц., Тютюлкова Н. и др. Медикобиол. информация, 1980, 6, с.8.
6. Федоров И.В.В.сб.: Изменение метаболизма у животных при гипокинезии. Ярославль, 1984, с.81.
7. Bray, G.A. Anal.Biochem. 1966, 1, 279.
8. Pedre I.P., Schimpfesse L, Crokaert R.I. Farm.Tijdschr. Belg. 1973, vol.50, 4, 298.
9. Platt P., Hering H., Hering F.J. Drug Res., 1974, 24, 1588.
10. Woelk M. II Int.Symp.on Nootropic Drugs, Mexico, 1981, 46.