

Особенности действия пирацетама на утилизацию глюкозы в головном мозге в условиях гипокинезии

К.В.Мелконян

Кафедра фармакологии ЕрГМУ им.М.Гераци

375025, Ереван, ул.Корюна, 2

Ключевые слова: гипокинезия, постишемическая гипоперфузия, утилизация глюкозы, пирацетам, нейропротекция

Факторами, способствующими развитию сосудистых заболеваний мозга являются условия современной жизни, прежде всего урбанизация, автоматизация и недостаточная двигательная активность, или гипокинезия (ГК) [1, 29]. Ранее полученные нами данные свидетельствуют об ишемическом характере нарушений мозгового кровообращения и метаболизма в головном мозге в условиях ГК [2, 10]. Постишемическая гипоперфузия сопровождается сложными фазными процессами, ведущими к формированию энергетического дефицита [9], являющегося триггерным звеном развития гипокинетических повреждений в головном мозге, с дальнейшим развитием глутаматной эксайтотоксичности [28, 30] и запрограммированной смерти клетки [20, 21, 24] в уязвимых к ишемии областях, где регистрируется низкий уровень аэробной утилизации глюкозы [25].

В качестве возможных фармакологических средств профилактической коррекции ишемических нарушений, индуцируемых ГК, могли бы быть ноотропные средства – препараты, нормализующие и усиливающие высшие интегративные функции мозга [4, 5, 12].

Учитывая вышеизложенное, целью данного исследования явилось изучение аэробной утилизации глюкозы нервной тканью в различные сроки ГК и под влиянием эталонного ноотропа пирацетама.

Материал и методы

Эксперименты проводились на 98 беспородных белых крысах массой 140–180г. Животные были разделены на группы: I (20 крыс) – интактные животные, которые содержались в обычных условиях вивария; II, III, IV, V (соответственно 18, 22, 22, 16 крыс) – животные, которые находились в условиях ГК в течение 15, 30, 45 и 60 суток. ГК вызывали помещением животных в индивидуальные тесные клетки-пеналы из органического стекла, ограничивающие их двигательную активность [16].

За три дня до наступления каждого конкретного

срока ГК крысам ежедневно внутривенно вводили пирацетам (ноотропил, "Polfa", Староград), в дозе 20 мг/кг.

Изучение скорости окислительной утилизации глюкозы (СОУГ) *in vitro* проводили с помощью продукции меченой углекислоты ($^{14}\text{CO}_2$) по методу, разработанному в НИИ биохимии АН РА. Уровень радиоактивности просчитывали на сцинтилляционном спектрометре SL-4221 («Roche Bioelectronique Kontrol», Франция) по программе, предусматривающей счет ^{14}C с применением внешней стандартизации. Данные выражали в распадах в минуту на 1 мг свежей ткани (DPM/mg – disintegration per minute in 1mg fresh tissue). Достоверность полученных результатов оценивали с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Анализ распада [$1\text{-}^{14}\text{C}$]-глюкозы *in vitro* показывает, что на всем протяжении ГК продукция до $^{14}\text{CO}_2$ как в гомогенатах коры головного мозга, так и гипоталамуса претерпевает фазные изменения, оставаясь выше контрольных величин.

Ранняя ГК сопровождается резким возрастанием интенсивности утилизации [$1\text{-}^{14}\text{C}$]-глюкозы, что проявляется в многократном увеличении содержания $^{14}\text{CO}_2$. Так, уровень образования меченой $^{14}\text{CO}_2$ в гомогенатах коры мозга, составляющий в контроле $90,86 \pm 0,82$ DPM/mg, на 15-е сутки ГК возрастает до $2052,7 \pm 1,8$ DPM/mg ($n=12$; $p<0,05$), то есть почти в 22,5 раза. На 15–30-е сутки наблюдается тенденция к понижению продукции $^{14}\text{CO}_2$. На 30-е сутки эксперимента утилизация меченой [$1\text{-}^{14}\text{C}$]-глюкозы интенсифицируется в 2,4 раза слабее, чем на 15-е сутки, однако превышает в 9,4 раза уровень контроля (рис.).

Интенсивность продукции радиоактивной $^{14}\text{CO}_2$ оказалась более выраженной на 45-е сутки ГК, превосходя нормальный уровень в 28,5 раза. С 60-х суток резко подавляется образование $^{14}\text{CO}_2$, составляя

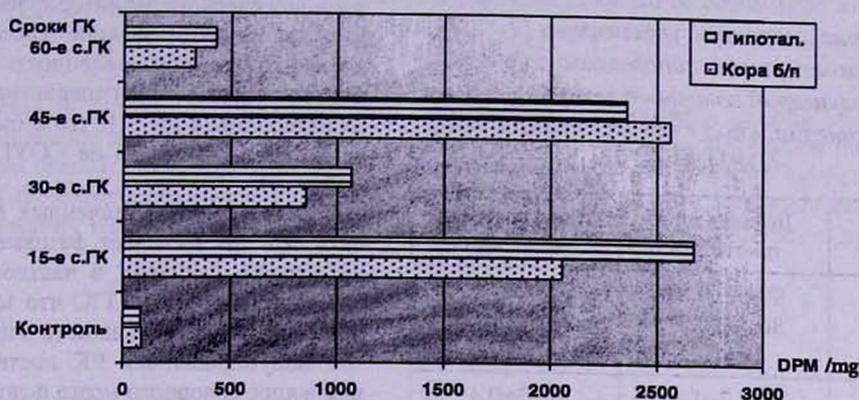


Рис. Скорость утилизации $[1-^{14}\text{C}]$ -глюкозы гомогенатами гипоталамуса и коры больших полушарий головного мозга в разные сроки гипокинезии. По оси абсцисс – количество импульсов в минуту на 1 мг свежей ткани, по оси ординат – условия эксперимента

332.0 ± 1.2 DPM/mg ($n=12$; $p<0.05$).

Нами обнаружено, что более интенсивным оказалось образование радиоактивной $^{14}\text{CO}_2$ в гомогенатах гипоталамуса (рис.), где СОУГ усиливается в 33,2; 13,3; 29,3; 5,32 раза соответственно на 15, 30, 45 и 60-е сутки ГК, по сравнению с контролем.

Интенсификация СОУГ в условиях ГК оценивается как адекватная адаптационная реакция к стрессогенному действию ГК, что приводит к стимуляции функциональной активности гипоталамуса и коры мозга [17] и сопровождается повышением потребления глюкозы [26]. По всей вероятности, в ранние сроки ГК стимуляция СОУГ реализуется за счет повышения захвата глюкозы [22] из-за развития постишемической гипоперфузии [1,11], что подтверждается ранее полученными нами данными по изучению захвата ^{14}C -глюкозы срезами коры мозга и гипоталамуса *in vitro* [8].

Можно предположить, что фазовые изменения СОУГ на протяжении ГК обусловлены постишемической гипоксией [1,11], сопровождающейся сложными фазными процессами, в основе которых лежат последовательные изменения свойств митохондриального ферментного комплекса [27]. Исследования, проведенные в нашей лаборатории свидетельствуют о том, что при ГК нарушается процесс фосфорилирования АДФ, а также активность сукцинатдегидрогеназы в митохондриях мозга. Эти нарушения носят фазовый характер [15]. Резкое снижение СОУГ в поздние сроки ГК сопряжено с включением альтернативного энергообразования с дальнейшим нарушением энергетического гомеостаза мозговой ткани [12], что усугубляет развитие ацидоза и оксидативного стресса по ходу развития ГК [3].

Известно, что основными мишенями для действия

ноотропных средств служат поражения мозга, которые сопряжены с первичными расстройствами окислительного и энергетического метаболизма нервных клеток [7, 19, 31]. В силу этого при трактовке механизмов их клеточного действия главный акцент, естественно, делается на их способность устранять такого рода нарушения [4, 13].

Однако весьма важным и интригующим фактом является то обстоятельство, что полученные нами данные по изучению действия эталонного ноотропа пирacetата в норме и в условиях ГК неоднозначны.

Исследование эффектов пирacetата на СОУГ показало, что препарат в норме не вызывает значительных изменений в выделении $^{14}\text{CO}_2$. Иная картина наблюдается в условиях ГК. Так, резкое усиление СОУГ гомогенатами коры и гипоталамуса в ранние сроки ГК выражено подавляется на фоне введения пирacetата, в то время как в 45-е и 60-е сутки регистрируется стимуляция СОУГ, по сравнению с данными того же срока эксперимента без введения препарата (таблица).

Угнетение адекватного энергообразования в мозговой ткани в ранние сроки ГК на фоне действия пирacetата может быть результатом его вазодилатирующего действия, приводящего к усугублению развиваемой при ГК постишемической реперфузии с дальнейшим повышением проницаемости микрососудов с формированием отеков мозговой ткани, а также стимуляцией генерации активных форм кислорода [6]. Это согласуется с ранее полученными нами данными о негативном действии пирacetата на некоторые гемодинамические и морфологические параметры в условиях ГК, а именно полнокровие сосудов, формирование отеков и очаговых кровоизлияний в мозговой ткани и полостях мозговых желудочков, страдает также структурная целостность клеток [10, 23].

Таблица

Изменение скорости утилизации [$1-^{14}C$]-глюкозы гомогенатами гипоталамуса и коры больших полушарий головного мозга в разные сроки гипокинезии и под влиянием пирacetama (DPM /mg)

Условия эксперимента	До введения препарата	После введения пирacetama
Контроль	90,86±0,82 80,47±0,57 n=10	70,45±1,04 80,29±1,24 n=10
Гипокинезия 15-е сутки	2052,7±1,8* 2672,9±1,0* n=10	114,3±0,4* 37,71±0,3 n=8
30-е сутки	855,6 ± 0,6 1068,9 ± 0,6* n=12	681,76±1,5 410,79±1,54* n=10
45-е сутки	2565,3±2,7* 2358,2 ± 1,9* n=12	3652,46±0,25* 2052,0±1,5 n=10
60-е сутки	332,0±1,2* 428,54±0,3 n=8	1465,05±1,17* 2996,6 2,07* n=8

Примечание. Верхняя строка – кора больших полушарий головного мозга, нижняя – гипоталамус, * $p < 0,05$

Полученные нами данные по изучению влияния пирacetama на мозговую ткань в условиях ГК подтверждаются также литературными данными по изучению клинической эффективности данного препарата. Так, при тяжелом течении инсульта с клиническими признаками отека мозга применение пирacetama

оказалось неэффективным. Учитывая данные нейрофизиологического мониторинга влияния пирacetama на функциональное состояние мозга, авторы предполагают обусловленность его негативных эффектов неадекватной гиперактивацией энергетического метаболизма [6, 14], что и было выявлено нами по изучению пирacetama на СОУГ в поздние сроки ГК (таблица).

Исходя из представленных данных можно заключить, что ГК вызывает фазовые изменения аэробной утилизации глюкозы, в частности, резкую стимуляцию в ранние сроки ГК, что может иметь большую биоэнергетическую ценность в предотвращении развития индуцированных ГК постишемических нарушений в коре головного мозга и гипоталамусе.

Сравнительный анализ между СОУГ в исследуемых структурах мозга приводит к предположению, что гипоталамус, по сравнению с корой больших полушарий, проявляет более высокую толерантность к ишемии, индуцированной ГК.

Интерпретируя полученные результаты, можно провести гипотетическую аналогию между нарушением утилизации глюкозы в поздние сроки ГК и заболеваниями, которые сопровождаются хронической ишемией мозговой ткани [18].

Таким образом, учитывая результаты данного и ранних исследований, можно заключить, что ГК является фактором, изменяющим фармакологические особенности пирacetama, широко применяемого в клинической медицине.

Полученные данные служат экспериментальным обоснованием для пересмотра показаний к назначению пирacetama в качестве ноотропного средства в неврологической практике, вплоть до исключения назначения его лицам, находящимся на длительном постельном режиме и, особенно, при ишемических инсультах.

Поступила 22.01.06

Գլխուղեղում գլյուկոզայի յուրացման վրա պիրացետամի ազդեցության առանձնահատկությունները սակավաշարժության պայմաններում

Կ.Վ.Սելբոնյան

Բացահայտված է գլյուկոզայի յուրացման արագության զգալի աճ ուղեղի կեղևում և հիպոթալամուսում սակավաշարժության տարբեր փուլերում՝ առավել արտահայտված հետազոտության 15- և 45-րդ օրերին, ինչը կարելի է գնահատել որպես կոմպենսատոր ռեակցիա՝ ի պատասխան ուղեղային

հյուսվածքում հիպոկլինեզիայով ինդուցված իշեմիայի: Միևնույն ժամանակ պիրացետամը զգալիորեն ընկճում է գլյուկոզայի աէրոբ յուրացումը՝ հետագա գերիթանմանը, դրանով իսկ նպաստելով անդարձելի փոփոխությունների զարգացմանը ուղեղային հյուսվածքում սակավաշարժության պայմաններում:

Peculiarities of the influence of piracetam on glucose utilization in brain in conditions of hypokinesia

K.V.Melkonyan

A significant increase in glucose utilization rate in brain cortex and hypothalamus in various stages of hypokinesia (HK) has been revealed, more expressed on the 15- and 45-th days of the experiment, which should be considered as a compensatory reaction in response to hy-

pokinesia-induced ischemia in brain tissue. At the same time, piracetam significantly inhibits the rate of aerobic utilization of glucose following by further overstimulation, thereby promoting a development of irreversible changes in brain tissue in conditions of hypokinesia.

Литература

1. Акопян В.П. Гипокинезия и мозговое кровообращение. 1999, М., 240с.
2. Акопян В.П., Мелконян К.В., Кочарян А.Г. Спонтанная сократимость кровеносных сосудов и локальный мозговой кровоток в условиях ГК и под влиянием ГАМК-ергических веществ. Экспер. и клин. мед., 1993, 1-2, с. 90-95.
3. Акопян В.П., Симомян М.А., Манукян А.А., Симомян Р.М., Акопян А.А. Дисбаланс между уровнями металлопротеинов крови – регуляторов метаболизма активного транспорта в ранние сроки ГК у крыс. Бюлл. экспер. биол. и мед. М., 2001, 132 (11), с. 527-529.
4. Арушанян Э.Б. Нетрадиционный подход к оценке механизма специфического действия ноотропных средств. Экспер. и клин. фармакол., М., 2005, 68 (2), с.59-67.
5. Воронина Т.А., Гузевых Л.С., Трофимов С.С. Сравнение отдаленных поведенческих последствий применения ноопепта и пирacetama в ранний постнатальный период у крыс. Экспер. и клин. фармакол., М., 2005, 68 (2), с.3-7.
6. Гусев Е.И. Основные механизмы острой церебральной ишемии. В кн.: Мозг: клинические и теоретические аспекты, 2003, М., РАМН, с.139-158.
7. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М., 2001.
8. Кочарян А.Ж., Канаян А.С., Мелконян К.В. Влияние инсулина и пропранолола на захват ¹⁴C-глюкозы срезами мозговой ткани крыс при ГК. Мед. наука Армении НАН РА, 1997, т.ХХХVII, N 3-4, с.61-66.
9. Лукьянова Л.Д., Дубченко А.М., Белоусова В.В. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1994, 118, с. 576-581.
10. Мелконян К.В. Некоторые особенности гемодинамических, метаболических и морфологических изменений в головном мозге в условиях гипокинезии и под влиянием ГАМК-ергических веществ. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1993, 28 с.
11. Мелконян К.В. Изучение микроциркуляции и утилизации глюкозы в головном мозге в условиях ишемии и под влиянием ГАМК-ергических веществ. Мат-лы 2-ой Всеросс. конф. "Гипоксия", М., 1999, с. 48-49.
12. Мирзоян С.А., Акопян В.П., Топчян А.В. Нейрохимические аспекты регуляции кровоснабжения и метаболизма головного мозга. М., 1994, 200с.
13. Островская Р.У. Экспер. и клин. фармакол., М., 2003,66(2), с.32-37.
14. Скворцова В.И. Клинический и нейрофизиологический мониторинг, метаболическая терапия в остром периоде церебрального ишемического инсульта. Дисс. докт. мед. наук. М., 1993.
15. Соцкый О.П., Акопян В.П., Жамгарян Л.Г., Жамгарян А.Г. Влияние ГАМК и пирacetama на систему фосфорилирования АДФ митохондрий в условиях экспериментальной гипокинезии. Вопросы мед. химии, 2002, т.48, 5, с.485-489.
16. Федоров И.В. Проблемы космической биологии. М., 1982, т. 44.
17. Фокин В.Ф., Пономарева Н.В. Энергетическая физиология мозга М., 2003.
18. Beck T., Goller H.J., Wree A. Stroke, 1995, 16(6), p.1107.
19. Deduyt G., Bogousslavsky J. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr., 1999, 67, p. 419-427.
20. Dewar D., Underhill & Goldberg M.P. J.Cereb. Blood Flow Metab., 23(3), 2003, p. 263-274.
21. Egashira N., Iwasaki K., Ishibashi M. et al. Japan J. Pharmacol., 2002, 90(4), p. 321-327.
22. Gjedde A., Hansen A.J., Quistorff B. J.of Neurochemistry, 1981, 37 (4), p.807-812.
23. Hakopian V.P., Melkonyan K.V., Kevorgian G.A., Kanayan A.S. Neurochemistry. Plenum Press, New York, 1997.
24. Heron A., Pollard H., Dessi F., Moreau J. et al. J. Neurochem., 1993, 61, p.1973-1976
25. Kuroiwa T., Tarakado M., Yamaguchi T., Endo S., Ueki M., Okeda R. Neuroscience Letters, 1996, 206, p. 117-120.
26. Kuroiwa T., Ito U., Hakamata Y., Mies G., Hermann D. Acta Neurochir., 2000, Suppl. 76, p.43-46.
27. Lutz P.L. & Nilsson G.E. J.of Experim. Biology, 1997, 200, p.411-419.
28. Massieu L., Pel Rio D., Montiel T. Neuroscience, 2001, 106, 4, p. 669-677.
29. Melkonyan K.V. Off. J. of the European Atheroscl. Soc., 2005, 6/1, T03-P-012, p.40.
30. Sanchez-Carbente M.R., Massieu L. J.Neurochem., 1999, 72, p.129-138.
31. Wahlgren N.G. In: Neuroprot. Agements & Cerebral Ischemia (Green R., Cross A.J. eds). Academic Press, San Diego, London, Boston, 1997.