



УДК 616.89—008.441—12.577.1.612.015

ВЛИЯНИЕ ПИРАЦЕТАМА НА ВКЛЮЧЕНИЕ МЕЧЕНЫХ АМИНОКИСЛОТ В БЕЛКИ МОЗГА ЖИВОТНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ВНУТРИУТРОБНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭТИЛОВОГО АЛКОГОЛЯ

МАГИЗЕЛИС М. Я., ЗАБАУДОВСКИЙ А. Л., ШИХОВ С. Н.
НИИ психиатрии МЗ РСФСР, Москва

Исследованы показатели белкового метаболизма в мозгу пренатально алкоголизированных крыс, получавших в раннем постнатальном периоде курс пирацетама (500 мг/кг). В возрасте 3 месяцев у подопытных животных содержание суммарных и водорастворимых белков в отдельных структурах мозга снижается по сравнению с крысами, не получавшими препарата. Уровень водонерастворимых белков в коре полушарий и гиппокампе возрастает. У крыс, получавших пирацетам, включение меченых аминокислот ($[^3\text{H}]$ лейцин, $[^{35}\text{S}]$ метионин) было значительно увеличено и водонерастворимых белках этих структур. В большинстве других отделов мозга показатели синтеза и содержание разных групп белков имеют тенденцию к нормализации. У подопытных крыс наблюдали также особенности поведенческих реакций и условнорефлекторной деятельности. Применение пирацетама способствует частичной компенсации нарушений функции и метаболизма мозга в результате пренатальной алкоголизации.

Многочисленными клиническими наблюдениями установлено повреждающее действие этилового алкоголя в антенатальном периоде на развивающийся мозг [1—3]. На экспериментальных моделях алкогольной эмбриопатии показаны нарушения функции, структуры, некоторых видов метаболизма мозга животных, подвергавшихся антенатальным воздействиям этанола [4—6].

Ранее нами показано, что у половозрелых крыс, подвергавшихся пренатальной алкоголизации, обнаруживаются существенные особенности белкового метаболизма—нарушения синтеза белков в структурах мозга. В суммарных белках они выявлялись лишь при интенсивных функциональных нагрузках. Такие изменения особенно характерны для водонерастворимой фракции белков и наиболее выражены в коре полушарий и гиппокампе [7, 8]. Наряду с этим, у подопытных крыс отмечены изменения спонтанного поведения и условнорефлекторной деятельности, чувствительности к судорожным агентам.

С целью коррекции отмеченных нарушений нами был использован

препарат из группы ноотропов—пирацетам. Известно, что препарат обладает противогипоксическим действием, облегчает процессы обучения, предохраняет от амнезии, вызванной различными патогенными факторами [9, 10]. Пирацетам нашел применение в клинике при лечении задержек психического развития и умственной отсталости в результате внутриутробной патологии [11, 12]. В последнее время он начал использоваться в комплексной терапии недоношенных новорожденных с гипоксическими и травматическими повреждениями мозга [13].

В литературе имеются данные о стимулирующем влиянии пирацетама на белковый метаболизм в мозгу. Под влиянием пирацетама возрастает содержание полирибосом, изменяется активность катепсина и лизосомных ферментов [14], увеличено содержание [15] и ускорен синтез РНК в мозгу [16]. Пирацетам способствовал увеличению включения меченого лейцина в ткань [14] и белки мозга [17, 18]. Действие препарата особенно эффективно в условиях экспериментальной патологии. После введения циклогексимида, вызывающего угнетение синтеза белка и РНК в мозгу, применение пирацетама нормализовало содержание ДНК и РНК в отдельных его структурах [15]. У половозрелых крыс, которым циклогексимид вводили в раннем постнатальном периоде, пирацетам улучшал показатели условнорефлекторной деятельности [19].

Приведенные данные позволили предположить, что пирацетам может оказаться эффективным для коррекции нарушений поведения и белкового метаболизма в мозгу животных, перенесших внутриутробные воздействия этанола.

Материалы и методы

Крысам-самцам с 5 по 20 день беременности вводили желудочным зондом ежедневно 40%-ный раствор этанола (суточная доза 6—8 г/кг). Интактные животные получали изокалорийный раствор сахарозы. Новорожденные пренатально алкоголизированные крысы подопытной серии были разделены на 2 группы: одной группе с 5 по 30 день производили подкожные инъекции 20%-ного раствора пирацетама в дозе 500 мг/кг 5 раз в неделю, другой группе в те же сроки вводили физиологический раствор. Подопытные (получавшие пирацетам) и контрольные животные содержались в стандартных условиях вивария. В возрасте 3 месяцев после предварительного исследования ряда поведенческих тестов определяли интенсивность включения меченых аминокислот в белки разных структур мозга. Через 1 ч после внутрибрюшинного введения [^3H]лейцина и [^{35}S]метионина крысы декапитировали. Из навесок ткани коры полушарий, гиппокампа, стриатума, мозжечка, ствола, гипоталамуса после гомогенизации выделяли суммарные, водорастворимые и водонерастворимые белки, осаждали их 10% ТХУ с последующей сработкой 5% ТХУ, 96% этанолом, смесью этанол-эфир (1:3) и эфиром. Сухой белок обрабатывали трипсином и химотрипсином, гидролизат вносили в счетные флаконы со сцинтиллятором ЖС-8. Радиоактивность белков и ТХУ-супернатантов определяли на жидкостном сцинтилляционном счетчике

«Rack Beta» («ЛКВ», Швеция), рассчитывали их отношение как относительную У. А. белков. Содержание белка в ткани определяли по Лоури. Результаты исследований обрабатывали статистически по критериям Стьюдента и Вилкоксона-Манна-Уитни. В опытах использовано 40 беспородных белых крыс.

Результаты и обсуждение

У подопытных крыс, перенесших пренатальную алкоголизацию и получавших пирацетам в постнатальном периоде, содержание разных групп белков в отделах мозга изменялось неодинаково. Уровень суммарных белков в большинстве структур мозга существенно не отличался как от контрольных животных, так и от алкоголизированных, не получавших пирацетама. По отношению к последней группе крыс лишь в мозжечке и стволе мозга содержание белков у опытных крыс было достоверно снижено (рис. 1, а).

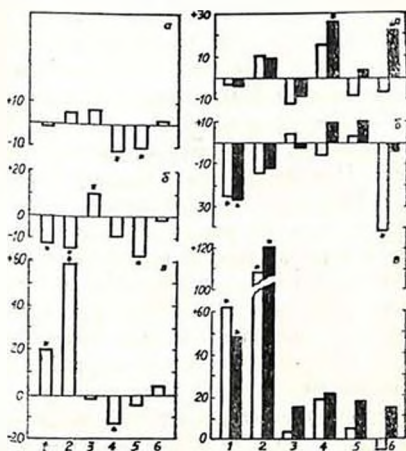


Рис. 1. Изменение содержания суммарных (а), водорастворимых (б) и водонерастворимых (в) белков мозга крыс, подвергавшихся пренатальной алкоголизации под влиянием пирацетама (в % к не получавшим препарата): 1—кора полушарий; 2—гиппокамп; 3—стриатум; 4—мозжечок; 5—ствол; 6—гипоталамус

Рис. 2. Изменение включения $[^3\text{H}]$ лейцина ($\square$) и $[^{35}\text{S}]$ метионина ($\blacksquare$) в белки мозга пренатально алкоголизированных крыс, получавших пирацетам. Обозначения те же, что и на рис. 1

Количество водорастворимых белков в ряде отделов (кора, гиппокамп, ствол) также было уменьшено ($p < 0.05$) и возрастало лишь в подкорковых отделах (рис. 1, б). Наиболее выраженные изменения характерны для водонерастворимых белков. Их уровень был увеличен в

коре полушарий (на 21%) и гиппокампе (на 50%). Вместе с тем, содержание белков в мозжечке было снижено, а в остальных исследованных структурах не изменено. Аналогичного характера изменения уровня водонерастворимых белков в структурах мозга у крыс, получавших пирацетам, отмечены и по отношению к интактным животным: в коре полушарий содержание белков было увеличено на 34%, в гиппокампе на 49%. В других отделах мозга приближалось к значениям контрольной серии.

На рис. 2 показаны особенности включения [^3H]лейцина и [^{35}S]метионина в белки 6 структур мозга у пренатально алкоголизированных крыс, получавших в постнатальном периоде пирацетам, по отношению к подопытным животным, которым препарат не вводили. Как видно из приведенных данных, изменения синтеза суммарных белков (рис. 2, а) в ряде структур были невелики и лишь в мозжечке и гипоталамусе включение [^{35}S]метионина было достоверно увеличено. Аналогичная тенденция для обоих предшественников отмечена в гиппокампе.

При раздельном исследовании синтеза белков в водорастворимой и водонерастворимой фракциях было показано, что изменения включения меченых предшественников в белки этих структур существенно отличались. Так, в водорастворимых белках коры полушарий включение обеих аминокислот было достоверно снижено (в опытах с [^3H]лейцином и в гипоталамусе). Аналогичные, но менее выраженные сдвиги наблюдали также в гиппокампе. Изменения синтеза водонерастворимых белков носили иной характер (рис. 2, в). У подопытных животных, получавших пирацетам, обращает внимание резкая активация включения меченых аминокислот в белки коры полушарий и гиппокампа. При этом в неокортексе такая активация составляла 48—63%, а в гиппокампе 109—130% по сравнению с крысами, подвергавшимися пренатальной алкоголизации без применения пирацетама, то есть включение аминокислот в белки этих структур было увеличено более чем в 1,5—2 раза. Почти в такой же степени по отношению к интактным животным возрастало включение предшественников в водонерастворимые белки коры полушарий, а в гиппокампе активация составляла 96—115%. В остальных структурах она была значительно менее выражена. При этом в большей степени возрастало включение в белки [^{35}S]метионина. В гипоталамусе изменения синтеза водонерастворимых белков были наименее значимы.

Результаты опытов показывают, что применение пирацетама в раннем постнатальном периоде у пренатально алкоголизированных крыс существенно отражается на состоянии белкового метаболизма в мозгу. У крыс, получавших пирацетам, содержание и показатели синтеза разных групп белков (особенно суммарных и водорастворимых) в ряде церебральных структур приближались к величинам, характерным для контрольной группы, то есть наблюдалась тенденция к их нормализации. Наряду с этим, под влиянием препарата отмечена значительная активация синтеза водонерастворимых белков, которая была наиболее значи-

тельной в гиппокампе и коре полушарий. Содержание белков в указанных структурах также было увеличено.

Приведенные факты заслуживают особого внимания в свете установленных нами ранее особенностей метаболизма белков в мозгу у крыс, перенесших воздействие этанола в антенатальном периоде. Как было показано [7, 8], у подопытных животных нарушения синтеза белков отмечались преимущественно в водонерастворимой их фракции и были наиболее выражены в гиппокампе и неокортексе. Поэтому нам представляется, что селективная активация синтеза этой фракции белков в указанных отделах мозга под влиянием пирацетама является одним из важных звеньев в механизме его терапевтического действия.

Как видно из полученных результатов, влияние пирацетама на метаболизм белков мозга обнаруживается в отдаленном периоде спустя 2 месяца по окончании курса его применения. Хотя механизм отставленного действия препарата на белковый метаболизм в мозгу пренатально алкоголизированных крыс еще не вполне ясен, можно предполагать, что существенное значение при этом имеют антигипоксические свойства пирацетама [9, 10]. В механизме повреждающего действия этанола на развивающийся мозг определенная роль принадлежит тканевой гипоксии, которую многие авторы рассматривают как общее звено для ряда патогенных факторов в антенатальном периоде.

В последнее время получены данные, указывающие на способность пирацетама угнетать процессы свободнорадикального перекисного окисления [20]. Это свойство препарата, по-видимому, является одним из компонентов его антигипоксического действия. Нарушения перекисного окисления липидов и энергетического обмена могут отражаться на энергетических процессах белкового синтеза. Поэтому надо полагать, что в механизме активирующего действия пирацетама на показатели белкового метаболизма мозга определенная роль принадлежит угнетению препаратом процессов перекисного окисления липидов и нормализации энергетического обмена.

Изменения белкового метаболизма в мозгу подопытных крыс, получавших пирацетам, отражались и на поведенческих реакциях: наблюдали увеличение двигательной активности, более быстрое угашение двигательных реакций, изменения других показателей спонтанного поведения. Отмечались также особенности условнорефлекторной деятельности, в частности, улучшение сохранения условного рефлекса активного избегания. Эти данные соответствуют современным представлениям о ключевой роли синтеза белков в мозгу в осуществлении высших интегративных функций—обучения и памяти [21, 22].

Нам представляется, что активация белкового метаболизма в структурах мозга, вызванная применением пирацетама, может в известной мере способствовать компенсации нарушений функции и метаболизма мозга, вызванных пренатальной алкоголизацией.

INFLUENCE OF PYRACETAM ON BRAIN PROTEIN METABOLISM IN ANIMALS WITH PRENATAL EXPOSURE TO ETHANOL

MAIZELIS M. Ya., ZABLUDOVSKY A. L., SHIKHOV S. N.

Institute of Psychiatrics, Moscow

Specificity of brain protein metabolism in rats with prenatal exposure to alcoholization, subjected to a course of pyracetam treatment (500 mg/kg) in early postnatal period, has been studied. In such animals at the age of 3 months the levels of total and water-soluble proteins in isolated brain structures reduced, while those of the water-insoluble proteins in cortex and hippocampus increased significantly compared with non-premedicated animals. Increase in trace amino acids inclusion into water-insoluble proteins of these structures in experimental animals has been detected. Changes in the brain protein metabolism influence the behavioral reactions and conditioned reflex activity in rats.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бадалян Л. О., Мاستюкова Е. М. Журн. невропатол. и психиатрии, т. 86, с. 1448—1454, 1986.
2. Куниковская Л. С. Журн. невропатол. и психиатрии т. 80, № 3, с. 417—422, 1980.
3. Усова Е. В., Сазонова Н. С., Рассадина Э. А. Журн. невропатол. и психиатрии, т. 81, № 10, с. 152—155, 1981.
4. Попова Э. Н. Журн. невропатол. и психиатрии, т. 83, № 7, с. 1053—1056, 1983.
5. Скосырева А. М., Смольникова Н. М. Фармакол. и токсикология, т. 6, с. 66—68, 1982.
6. Collangelo W., Jones D. G. Progress in neurobiol., v. 19, № 3, p. 271—314, 1982.
7. Майзелис М. Я., Заблудовский А. Л., Шихов С. Н. Нейрохимия, т. 2, № 3 с. 288—295, 1983.
8. Майзелис М. Я., Заблудовский А. Л., Шихов С. Н. Журн. невропатол. и психиатрии, т. 83, с. 74—79, 1983.
9. Машковский М. Д. Сб. научных трудов ВНИХФИ, вып. 9, с. 110—120, 1982.
10. Островская Р. У.—В сб.: Антидепрессанты и ноотропы, т. 101, с. 101—113, Л., Труды Ленинградского НИИ психоневрологии, 1982.
11. Аарудкая И. Г., Бармин В. В.—В кн.: Вопросы психофармакологии, т. 74, с. 225—230, М., Труды Московского НИИ психиатрии, 1976.
12. Fiegel G. Fortschr. med., v. 93, № 25, p. 1183—1186, 1975.
13. Стреланова В. А., Лобзин В. С., Макарова Э. К., Гаврилова Т. К. Журн. невропатол. и психиатрии, т. 86, № 10, с. 1463—1466, 1986.
14. Platt D., Herting H., Herting F. Arzneimittelforsch., v. 24, № 10, p. 1588—1590 1974.
15. Kubik V., Benesova O., Pavlik A. Activ. nerv. super., v. 23, № 1, p. 51—53, 1981.
16. Тунцева С., Тенцева Ц., Тютюлкова Н., Николова М. Мед.-биол. информация, вып. 6, с. 22, 1980.

17. Туксва С., Тенчсва Ц. Мед.-биол. информация, вып. 6, с. 8, 1980.
18. Nickolson V. I., Wolthius O. L. Biochem. pharmacol., v. 25, p. 2224—2244, 1976.
19. Буров Ю. В., Островская Р. У., Смольникова Н. М., Трофимов С. С., Молодая Г. М. Бюл. эксперим. биол. и мед., т. 51, № 4, с. 447—449, 1986.
20. Гукасов В. М., Расулов М. М., Ефуди С. Н. Бюл. эксперим. биол. и мед., № 6, с. 683—685, 1987.
21. Hyden H., Lange P. Science, v. 159, p. 1370—1373, 1968.
22. Кругликов Р. И. Нейрохимические механизмы обучения и памяти, М., Наука, 1981.

Поступила 14. XII 1987

В ИЗДАТЕЛЬСТВЕ «НАУКА»

готовится к печати в 1989 г. монография Демина Н. Н., Шортановой Т. Х. и Эмирбекова Э. Э. «Нейрохимия зимней спячки млекопитающих» (План выпуска литературы на 1989 г., кн. 2, Естественно-научная литература, № 618), около 10 п. л., библиография—275 назв.

В монографии впервые с большой полнотой сведены литературные данные и результаты собственных исследований авторов в области биохимических процессов в головном мозгу при зимней спячке млекопитающих. Рассмотрены сдвиги содержания и метаболизма нейромедиаторов (и нейромодуляторов), белков, РНК, низкомолекулярных азотистых метаболитов, липидов и биоэнергетических субстратов, активности соответствующих ферментов. Описана сложная динамика этих изменений по ходу спячки. Подчеркнуто отличие такого естественно регулируемого гипобиоза млекопитающих от пассивного холодового оцепенения холоднокровных животных. Намечены перспективные направления дальнейших нейрохимических исследований зимней спячки.

Книга предназначена для специалистов-нейрохимиков, нейрофизиологов, нейрофармакологов, а также всех биологов, интересующихся цирканнуальными процессами жизнедеятельности и адаптационными механизмами.

Предварительные заказы (со ссылкой на № 618 указанного выше плана издательства «Наука» на 1989 г.) можно направлять по адресу: 197345, г. Ленинград-345; Петрозаводская ул., 7; магазин «Книга-почтой» Северо-западной конторы «Академкнига» (ориент. цена—1 р 60 к.).