

ВЛИЯНИЕ НОВЫХ ПРИРОДНЫХ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ БИОГЕННЫХ АМИНОВ И ИХ МЕТАБОЛИЗМ В СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ КРЫС

А. В. Мекеня, А. Ф. Рябуха, Е. А. Сучков, В. С. Сергеев,
Д. Г. Ковалев, Л. А. Смирнова¹

Изучено влияние аналогов медиаторных аминокислот на уровень биогенных аминов и их метаболизм в различных структурах головного мозга при различной продолжительности жизни крыс.

Ключевые слова: производные аспарагиновой кислоты и глицина; биогенные амины.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема старения населения, особенно в развитых странах, в настоящее время является одной из ведущих экономических, социальных и медицинских проблем. Значительное увеличение доли лиц пожилого и старческого возраста выдвигает на одно из первых мест в современной медицине задачу эффективного лечения как возрастзависимой патологии, так и коррекции возрастных физиологических изменений (депрессии, болезнь Паркинсона, старческие деменции и др.) [3].

Среди медиаторных систем в ЦНС млекопитающих в последнее время большое внимание привлекает система возбуждающих аминокислот (ВАК). Установлено, что рецепторы ВАК обеспечивают процессы быстрого синаптического возбуждения в ЦНС, участвуют в таких важных физиологических процессах, как синаптическая пластичность, явление долговременной потенциации, восприятие сенсорной информации, регуляция нейроэндокринных функций, а также в патогенезе различных психических нарушений [10].

В ряде работ показано наличие антидепрессивной и геропротекторной активности у соединений на основе химической модификации эндогенных лигандов рецепторов ВАК [5].

В работах сотрудников Волгоградского государственного медицинского университета изучена антидепрессивная активность ацил- и фосфонсодержащих производных аспарагиновой кислоты и глицина, проявивших свойства частичных агонистов ВАК-рецепторов. Установлено, что данные вещества оказывают позитивное влияние на эмоциональную реактивность и когнитивную деятельность животных, не влияя на основные параметры свободного поведения в тестах “открытого поля” и зоосоциального взаимодействия. Антидепрессивные свойства соединений подтверждены на моделях патологии длительного стрессирования, острого и хронического потребления ал-

коголя, стресс-индуцированным депрессивноподобным состоянием и др. [4].

Учитывая, что процессы старения имеют общие патогенетические звенья с хроническим стрессом, а производные ВАК проявляют выраженные стресс-протекторные эффекты, мы предположили у них наличие протекторного эффекта на старых животных.

Влияние на продолжительность жизни и нейрохимический механизм психотропной активности новых соединений на “старых” животных не были изучены. Целью данной работы стало исследование влияния ряда веществ (частичных агонистов ВАК-рецепторов) на продолжительность жизни и изменение содержания биогенных аминов и их метаболитов в структурах головного мозга “старых” крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Эксперименты проведены на 81 белых беспородных крысах самцах массой 120 – 150 г в возрасте 3 – 4 месяцев (“молодые”) и 36 крысах в возрасте 24 месяца и массой 350 – 450 г (“старые”). В работе были использованы следующие вещества — ди(3-диметоксифосфорилпропил)ового эфира N-ацетил- DL-аспарагиновой кислоты (ПИР-87-6-0), L-(3-диметоксифосфорилпропокси-2-гидрокси-1-пропил)-глицина (АКФ-90-7), ди(2-диметоксифосфорилэтил)ового эфира N-ацетил- DL-аспарагиновой кислоты (АКФ-89-4), дилитиевой соли N-ацетил- DL-аспарагиновой кислоты (АКФ-94), синтезированные в лаборатории органического синтеза НИИ фармакологии ВолгГМУ, предоставленные А. А. Озеровым. Вещества вводили внутривентрикулярно в следующих дозах: ПИР-87-6-0 – 50 мг/кг, АКФ-90-7 — 1 мг/кг, АКФ-89-4 — 10 мг/кг, АКФ-94 – 10 мг/кг за 1 ч до проведения эксперимента в течение 45 дней. В качестве препарата сравнения применяли пираретам (200 мг/кг). Оценивали продолжительность жизни животных и содержание норадреналина, допамина, его метаболита — дигидроксифенилуксусной кислоты (ДОФУК), серотонина, его метаболита — гидроксиндолауксусной кислоты (ГИУ) во фронтальной коре, прилежащем ядре, стриатуме.

После декапитации животных мозг быстро извлекали и на холоде выделяли фронтальную кору, стриатум, при-

¹ Лаборатория психофармакологии (зав. — Д. Г. Ковалев) и лаборатория фармакологической кинетики (зав. — Л. А. Смирнова) Волгоградский государственный медицинский университет, 400131, Волгоград, пл. Павших Борцов, 1.
E-mail: alina moskovkina@mail.ru

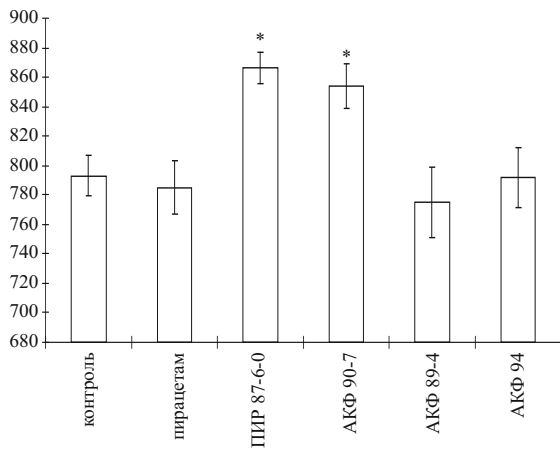


Рис. 1. Продолжительность жизни крыс после 45-дневного введения пирацетама, ПИР-87-6-0, АКФ-90-7, АКФ-89-4, АКФ-94. * $p < 0,05$ ($n = 12$); критерий Крускала-Уоллисса.

лежащие ядра, охлаждали в жидком азоте и гомогенизировали в 0,1 н HClO_4 на гомогенизаторе SilentCrusher.

Количественное определение содержания биогенных аминов и их метаболитов проводили методом ВЭЖХ на хроматографе с флуоресцентным детектором RF 10-Ax1 (“Shimadzu”, Япония) на колонке Supelcosil LC-18 (5 мкм; 100 мм · 4,6 мм). В работе использовали стандарты норадреналина (“Sigma”), допамина (“Sigma”), ДОФУК (“Sigma”), серотонина (“Sigma”), ГИУ (“Sigma”). Мобильная фаза содержала ацетонитрил для ВЭЖХ (УФ 210 нм) и 50 мМ буфер KH_2PO_4 (рН 3,0) в соотношении 5:95 соответственно. Хроматографирование проводили при скорости потока 1 мл/мин, температуре 30 °С. Изучаемые вещества определяли при длине волны экстинкции 280 нм и длине волны эмиссии 320 нм [6].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы BioStat 2008 с использованием непараметрических критериев Крускала-Уоллисса и Даннета для множественных сравнений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из мозга крыс выделяли фронтальную кору, прилежащее ядро и стриатум. Выбор этих структур был обуслов-

лен важной ролью переднего фронтального (лимбического) круга, который обеспечивает эмоциональную и мотивационную регуляцию поведения [8] и участвует в развитии аффективных расстройств [7].

Существуют данные о ВАК-позитивном действии ноотропных средств. Есть сведения, что пирацетам обладает свойствами агониста ауторецепторов глутамата, которые, по-видимому, имеют свойства AMPA-рецепторов [1, 2].

Поэтому, исходя из указанного выше, а также из данных, полученных на предыдущих этапах исследования в нашей лаборатории, в качестве препарата сравнения использовали пирацетам в дозе 200 мг/кг [4].

Как видно из представленных результатов, АКФ 89-4 (10 мг/кг) и АКФ 94 (10 мг/кг) не увеличивали продолжительность жизни животных в сравнении с контролем. Напротив, ПИР 87-6-0 (50 мг/кг) и АКФ 90-7 (1 мг/кг) достоверно увеличивали ($p < 0,05$) продолжительность жизни крыс по сравнению с контролем. Пирацетам не оказывал значимого влияния на продолжительность жизни крыс (рис. 1).

Учитывая тот факт, что уровень и соотношение моноаминов в мозге с возрастом изменяется, было целесообразно, на наш взгляд, изучить влияние соединений — “лидеров” на изменение уровня основных нейромедиаторов головного мозга крыс в различные возрастные периоды.

Результаты количественного определения нейромедиаторов и их метаболитов в структурах головного мозга крыс в различные возрастные периоды без введения изучаемых веществ представлены в таблице.

Обнаружено снижение количества норадреналина, допамина, ДОФУК в мозге “старых” крыс по сравнению с молодыми особями (* $p < 0,05$), уровень серотонина и ГИУ изменялся в меньшей степени в мозге “старых” крыс по сравнению с молодыми особями ($p < 0,05$), что согласуется с данными литературы [9].

Результаты количественного определения нейромедиаторов и их метаболитов в структурах головного мозга старых крыс после 45-дневного введения ПИР 87-6-0 (50 мг/кг) и АКФ 90-7 (1 мг/кг) по сравнению с крысами, получающими физиологический раствор, представлены на рис. 2, 3.

Содержание норадреналина, допамина, ДОФУК, серотонина, ГИУ (нг/мг ткани) в структурах головного мозга крыс

Структура мозга	“молодые”	“старые”	“молодые”	“старые”
	Норадреналин		Допамин	
Прилежащее ядро	71,6 ± 21,7	30,2 ± 9,3*	365,8 ± 163,3	63,2 ± 13,1*
Стриатум	78,7 ± 19,7	42,8 ± 11,2	433,6 ± 206,3	56,5 ± 19,4*
Фронтальная кора	132,6 ± 6,6	53,2 ± 12,3*	914,3 ± 240	71,2 ± 11,5*
	ДОФУК		Серотонин	
Прилежащее ядро	256,6 ± 35,1	85,4 ± 23,3*	104,1 ± 54,2	103 ± 96,7
Стриатум	844,2 ± 18	98,6 ± 12,8*	326,6 ± 103,1	488,2 ± 32,4
Фронтальная кора	315,1 ± 28,3	71,2 ± 13,5*	388,1 ± 57,3	591,8 ± 115,3
	ГИУ			
Прилежащее ядро	648,8 ± 31,4	825,1 ± 56,2*		
Стриатум	1419 ± 451,4	1725,5 ± 396,8		
Фронтальная кора	813,2 ± 58,1	1058,2 ± 365,4		

Примечание. * — достоверные различия с группой “молодых” крыс при $p < 0,05$ ($n = 9$); критерии Крускала-Уоллисса и Даннета.

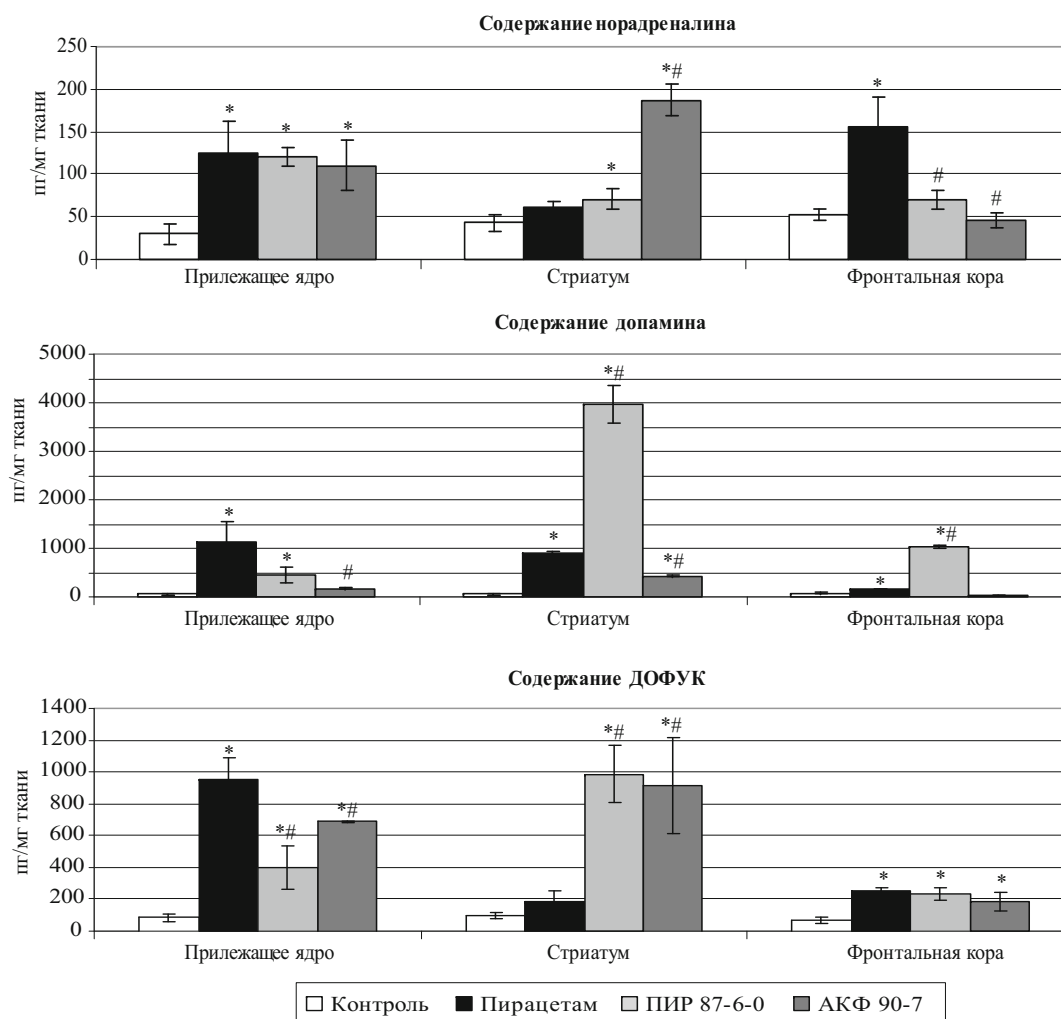


Рис 2. Содержание норадреналина, допамина, ДОФУК (в пг/мг ткани) в структурах головного мозга крыс после 45-дневного введения соединений ПИР 87-6-0 (50 мг/кг) и АКФ 90-7 (1 мг/кг). * $p < 0,05$ по сравнению с контролем, # $p < 0,05$ по сравнению с пирацетамом ($n = 9$); критерии Крускала-Уолисса и Даннета.

Так, соединение ПИР 87-6-0 (50 мг/кг) и АКФ 90-7 (1 мг/кг) увеличивали содержание НА в прилежащем ядре и стриатуме, не уступая пирацетаму.

Соединение ПИР-87-6-0 увеличивало уровень ДА в стриатуме и во фронтальной коре, значительно превосходя пирацетам, выводя показатели практически на уровень молодых особей.

Введение изучаемых веществ (50 мг/кг и 1 мг/кг соответственно) способствовало усилению обмена ДОФУК во всех рассматриваемых структурах по сравнению с контролем, но уступало пирацетаму в прилежащем ядре. Введение соединений ПИР 87-6-0 (50 мг/кг) и АКФ 90-7 (1 мг/кг) снижало уровень серотонина во фронтальной коре. АКФ 90-7 (1 мг/кг) достоверно снижало содержание серотонина и в стриатуме.

Введение изучаемых веществ (50 мг/кг и 1 мг/кг соответственно) значимо не повлияло на обмен ГИУ. Это позволяет предположить наличие у АКФ 90-7 и ПИР 87-6-0 в большей степени модулирующей активности на ВАК рецепторы.

ПИР 87-6-0 оказывал существенное влияние на увеличение как самого ДА, так и ДОФУК, что указывает на усиление метаболизма ДА под действием изучаемого соединения. Известно, что существует тесная связь между глутаматергической и дофаминергической системами и что эти системы могут модулировать активность друг друга посредством NMDA-рецепторов. По всей видимости, производные аспарагиновой кислоты в условиях снижения синтеза и высвобождения дофамина, наблюдаемых при старческих деменциях, способны оказывать активирующее действие на биосинтез и выброс ДА посредством агонистического влияния на пресинаптические NMDA-рецепторы глутамата.

Анализ результатов экспериментов позволяет полагать, что изучаемый аналог медиаторных аминокислот ПИР 87-6-0 в большей степени ($p < 0,05$ по сравнению с пирацетамом и АКФ 90-7) восстанавливает баланс нейромедиаторов в рассматриваемых структурах головного мозга крыс, нормализуя возрастные изменения содержания основных нейромедиаторов, что и объясняет увеличение продолжительности жизни крыс при 45-дневном

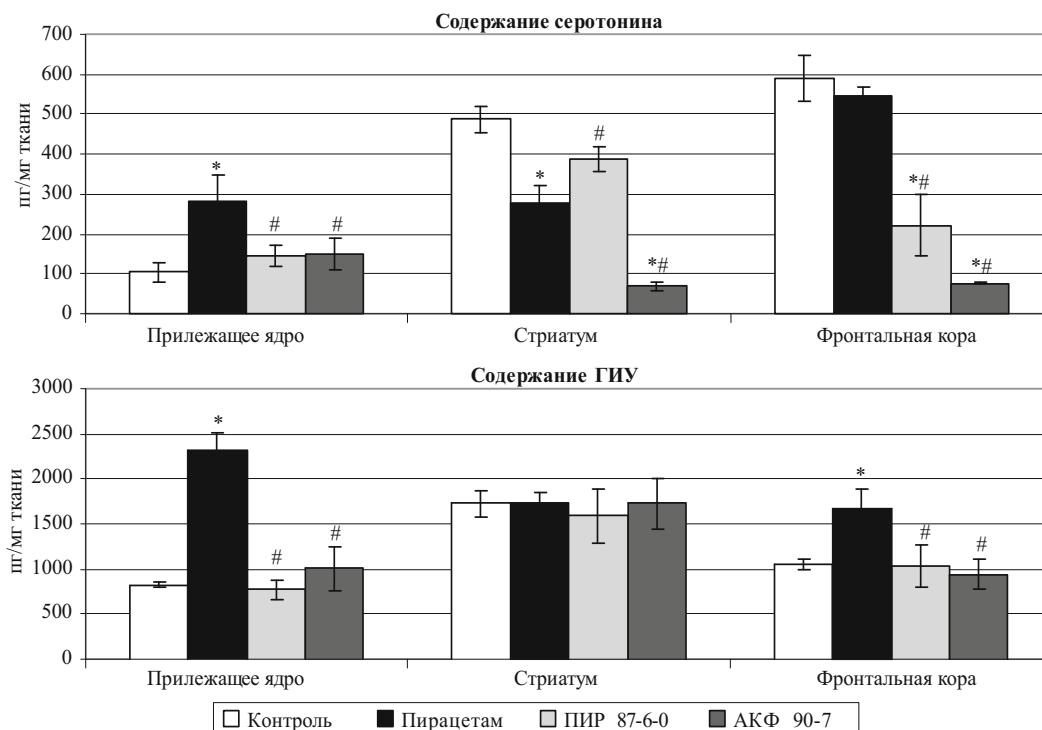


Рис. 3. Содержание серотонина и ГИУ (в пг/мг ткани) в структурах головного мозга крыс после 45-дневного введения соединений ПИР 87-6-0 (50 мг/кг) и АКФ 90-7 (1 мг/кг). * $p < 0,05$ по сравнению с контролем, # $p < 0,05$ по сравнению с пирацетамом ($n = 9$); критерии Крускала-Уолисса и Даннета.

введении данного препарата. Таким образом, показано, что изучаемые вещества — производные возбуждающих аминокислот оказывают положительное влияние на продолжительность жизни и нормализуют содержание биогенных аминов в структурах головного мозга возрастных крыс, что позволяет рекомендовать их как основу для создания новых лекарственных средств для терапии и профилактики заболеваний центральной нервной системы, связанных с возрастом пациентов.

ВЫВОДЫ

1. Соединения ПИР 87-6-0 (50 мг/кг) и АКФ 90-7 (1 мг/кг) при 45-дневном введении увеличивают продолжительность жизни “старых” животных, превосходя по выраженности эффекта пирацетам (200 мг/кг).

2. ПИР 87-6-0 и АКФ 90-7 в дозах 50 мг/кг и 1 мг/кг соответственно при внутрибрюшинном введении оказывают активирующее влияние на систему медиаторных аминов мозга крыс, в большей степени на дофаминергическую систему.

ЛИТЕРАТУРА

- И. И. Абрамец, П. В. Андреев, Б. П. Самойлович, *Экспер. и клин. фармакол.*, **58**(1), 15 – 17 (1995).
- Абрамец И. И., *Нейронаука: теорет. та клініч. Аспекти*, **2**(1/2), 8 – 13 (2006).
- С. Г. Бурчинский, *Вісник фармакол. фарм.*, № 1, 12 – 17 (2002).
- В. И. Петров, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 2, 20 – 23 (2003).
- Л. Б. Пиотровский, И. А. Григорьев, В. И. Петров, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 1, 74 – 80 (1998).
- А. Ф. Рябуха, Е. А. Сучков, А. В. Мекеня и др., *Вестн. ВолгГМУ*, № 2 (34), 29 – 31 (2010).
- П. В. Симонов, *Журн. высш. нервн. деят. им. И. П. Павлова*, **43**(3), 514 – 526 (1993).
- Н. Н. Яхно, В. В. Захаров, А. Б. Локшина, Н. Н. Коберская, Э. А. Мхитарян., *Деменции: Руководство для врачей*, МЕД-пресс-информ., Москва (2010).
- S. Reeves, C. Bench, R. Howard, *International journal of geriatric psychiatry*, № 17, 359 – 370 (2002).
- P. Skolnick, P. Popik, R. Trullas, *Trends in Pharmacological Sciences*, **30**(11), 563 – 569 (2009).

Поступила 26.03.12

EFFECT OF NEW DERIVATIVES OF NATURAL NITROGEN-CONTAINING COMPOUNDS ON THE LEVEL AND METABOLISM OF BIOGENIC AMINES IN BRAIN STRUCTURES AND THE LIFE SPAN OF RATS

A. V. Mekenya, A. F. Ryabukha, E. A. Suchkov, V. S. Sergeev, D. G. Kovalev, and L. A. Smirnova

Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volgograd, 400131, Russia

Effects of the analogs of transmitter amino acids on the level of biogenic amines and their metabolism in various structures of brain and on the life span of rats have been studied.

Key words: Asparagic acid and glycine derivatives, biogenic amines