УДК 616.895.4:591.1

ПЕПТИДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПОВЕДЕНИЯ И МЕДИАТОРНОГО БАЛАНСА У СТАРЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ОККЛЮЗИИ СОННЫХ АРТЕРИЙ

Карантыш Г.В., Абрамчук В.А., Рыжак Г.А., Менджерицкий А.М.

ФАГОУ ВПО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону, e-mail: gvkarantysh@sfedu.ru

В статье представлены результаты сравнительного анализа эффектов кортексина и пинеалона на поведение и нейромедиаторный баланс старых крыс в условиях окклюзии сонных артерий (ОСА). При введении кортексина ложнооперированным старым крысам происходит снижение представленности груминга, а в условиях введения пинеалона – повышение релаксированного бодрствования, снижение груминга и мотивационного поведения. У старых животных при введении кортексина перед окклюзией сонных артерий повышается время поведенческого сна, при введении пинеалона перед окклюзией сонных артерий на фоне повышения поведенческого сна снижается ориентировочное, мотивационное поведение и двигательная активность. У старых крыс, перенесших окклюзию сонных артерий, введение кортексина и пинеалона способствует возрастанию содержания адренергических медиаторов: в коре больших полушарий – ДОФА и дофамина, в стволовых структурах – адреналина, а также норадреналина у животных, которым перед ОСА вводят кортексин.

Ключевые слова: старые крысы, поведение, нейромедиаторный баланс

PEPTIDE REGULATION OF BEHAVIOR AND MEDIATOR BALANCE OF OLD RATS WITH OCCLUSION OF THE CAROTID ARTERIES

Karantysh G.V., Abramchuk V.A., Ryzhak G.A., Mendzheritski A.M.

Federal state independent educational organization of Higher professional education «Southern Federal University», Rostov-on-Don, e-mail: gvkarantysh@sfedu.ru

In the article the results of the comparative analysis of the effects and cortexin and pinealon on behavior and neurotransmitter balance of old rats with occlusion of the carotid arteries (OCA) are represented. When introducing cortexin to falsely operated aged rats there is a decrease in the representation of grooming, while the introduction pinealon improves the relaxed wakefulness, decreases grooming and motivational behavior. Introduction cortexin to old animals before occlusion of the carotid arteries increases during behavioral sleep, when administering of pinealon before occlusion of the carotid arteries in the background of increasing behavioral sleep reduces tentative, motivational behavior and physical activity. The old rats underwent occlusion of the carotid arteries; the introduction of cortexin and pinealon contributes to increasing the content of adrenergic mediators in the cerebral cortex – DOPA and dopamine in brainstem structures – adrenaline and noradrenalin in animals injected cortexin to the OCA.

Keywords: old rats, behavior, neurotransmitter balance

Нейродегенеративные заболевания – одно из активно развивающихся направлений в медицине настоящего времени [1, 6]. Главным фактором, приводящим к развитию нейродегенерации, является гипоксия мозга, механизмы действия которой на уровне клеток мозга изучены достаточно хорошо: изменяется баланс нейромедиаторов и продуктов их обмена в структурах мозга [8, 10], нарушаются структурно-функциональные свойства клеточных мембран, что может приводить к гибели клеток [9].

Одним из возможных путей коррекции негативных последствий гипоксии является использование регуляторных пептидов. Это обусловлено, прежде всего, их полифункциональностью и способностью к запуску каскадных реакций. Геропротекторные свойства ряда пептидных препаратов продемонстрированы на экспериментальных моделях, а также в клинической практике [3–5, 7 и др.].

Целью данного исследования явилось изучение регуляции кортексином и пинеалоном поведения и нейромедиаторного баланса у старых крыс, перенесших окклюзию сонных артерий.

Материалы и методы исследования

Исследование проводили на 120 белых беспородных крысах-самцах в возрасте 18-ти месяцев. Все подопытные животные были разделены на группы: 1 – ложнооперированные (л/о) животные (n = 20), которым в течение 5-и дней вводили в равном объеме 0,9 % раствор натрия хлорида (контроль); 2 – животные (n = 20), которым в течение пяти дней вводили в равном объеме 0,9 % раствор натрия хлорида, затем обездвиживали введением тиопенталового наркоза и проводили перевязку правой сонной артерии на 24 часа и левой сонной артерии на 3 минуты с последующей 24-часовой реоксигенацией (ОСА); 3 – л/о животные (n = 20), которым внутрибрюшинно вводили кортексин в дозе 10 мкг/кг массы тела в течение пяти дней перед операцией (кортексин); 4 – л/о животные (n = 20), которым внутрибрюшинно вводили пинеалон в дозе 10 мкг/кг массы тела в течение 5-и дней перед ОСА (пинеалон); 5 – животные (n = 20), которым внутрибрюшинно вводили кортексин в дозе 1 мг/кг массы тела в течение 5-и дней, затем проводили ОСА (кортексин + ОСА); 6 – животные (n = 20), которым внутрибрюшинно вводили пинеалон в дозе 10 мг/кг массы тела в течение 5-и дней, затем про-

водили ОСА (пинеалон + ОСА). Через 23 часа после ОСА животных тестировали в «открытом поле».

Ишемизация мозга достигалась перевязкой левой сонной артерии и через минуту – временной окклюзией (на 3 минуты) правой сонной артерии с последующей 24-часовой реоксигенацией. Для количественной оценки меры представленности контролируемых поведенческих функций весь поведенческий континуум в естественном цикле “активность-покой” был разбит на 8 форм поведения: R1 – поведенческий сон, R2 – горизонтальная локомоторная активность, R3 – вертикальная локомоторная активность, R4 – питье воды, R5 – потребление пищи, R6 – разные виды мелкой двигательной активности, R7 – груминг, R8 – релаксированное бодрствование. Формы поведения фиксировали по 10 минут 3 раза в течение первой половины дня. После определения структуры поведения крыс декапитировали и выделяли на холоде структуры мозга: кору больших полушарий (КБП) и стволовые структуры (СС), где определяли содержание нейромедиаторов. Содержание норадреналина (НА), адреналина, дофамина (ДА) и ДОФА определяли с помощью обращенно-фазного варианта высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ детектированием на установке Gold Nouveau 125/166 Basic Gradient HPLC System Beckman Coulter. Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с использованием пакета программ Statistica for Windows 6.5.

Результаты исследования и их обсуждение

В качестве теста, отражающего степень нейродегенеративных процессов при окклюзии сонных артерий, проводили подсчет процента выживших старых животных, получавших пептидные препараты, и животных, которым до операции вводили физиологический раствор (табл. 1).

Таблица 1

Процент выживаемости старых крыс, находящихся в условиях курсового профилактического введения пептидов перед моделированием окклюзии сонных артерий

Группа	Процент выживших животных после ОСА через:		
	3 часа	12 часов	24 часа
ОСА (n = 20)	70 %	60 %	40 %
Кортексин + ОСА (n = 20)	80 %	80 %	80 %
Пинеалон + ОСА (n = 20)	90 %	90 %	90 %*

Примечание. * – достоверные отличия (по критерию Фишера) по отношению к группе крыс, подвергнутых ОСА ($p \leq 0{,}05$).

На фоне введения пинеалона процент выживших животных спустя 3, 12 и 24 часа после ОСА составил 90 %. В условиях премедикации кортексином данный показатель в исследуемые временные периоды после ОСА составил 80 %. Согласно данным литературы, применение кортексина в постишемическом периоде уменьшает число погибших крыс на 3 и 7 сутки после окклюзии сонных артерий [2]. Можно предположить, что пинеалон также способен повысить процент выживаемости в отдаленные сроки после ОСА.

Характер поведенческих реакций у л/о животных был сходным с интактными животными. У выживших после ОСА старых крыс оценивали влияние операции и предварительного введения препаратов на поведение. В группе животных, подвергнутых ОСА, наблюдали значительное снижение времени R5 (на 86 %) и R6 (на 30 %) относительно л/о крыс. При подсчете количества горизонтальных и вертикальных локомоций установлено, что у животных, подвергнутых ОСА, происходило снижение количества вертикальных стоек (на 70 %; $p < 0{,}05$) по сравнению с контролем.

Для оценки влияния пептидов, введенных перед ОСА, на поведение крыс исследовали их эффекты на поведение л/о животных. Введение кортексина л/о крысам способствовало снижению времени R7 (на 55 %) относительно контроля. Менее выраженное изменение времени на R7 выявлено при введении пинеалона л/о животным. Понижение времени R7 при введении пептидных препаратов можно объяснить повышением стрессоустойчивости животных. Известно, что именно у грызунов груминг специфически активируется при действии стресса, и поэтому считается одним из его поведенческих маркеров [8]. При введении пинеалона выявлено увеличение времени R8 (+ 108 %) животных по сравнению с контролем, а также снижение R4-R5 ($0{,}1 < p < 0{,}05$). У животных, которым вводили пинеалон, время R4 было меньше, а R7 и R8 – выше относительно животных, которым вводили кортексин. На другие формы поведения введение препаратов повлияло сходным образом. При введении кортексина перед ОСА у животных происходило увеличение R1 и снижение R2-3, R5 и R7 относительно контроля. У крыс, которым вводили пинеалон перед ОСА, время на R1 и R8 возросло на 61 и 123 % по сравнению с л/о животными. Время остальных форм поведения (за исключением мелкой двигательной активности) снизилось относительно 1-й группы. У крыс 6-й группы (пинеалон + ОСА) относительно животных 5-й группы (кортексин + ОСА) было угнетено пищевое и питьевое поведение.

При анализе эффектов ОСА на медиаторный баланс показано, что в КБП старых крыс происходит понижение уровня НА (на 42%), также, как и в СС (на 22%) относительно контроля. Уровень А вырос в КБП (на 65%) и СС (на 154%). Для исследования эффектов пептидных препаратов, введенных крысам перед ОСА, была проведена серия экспериментов по изучению влияния кортексина и пинеалона на баланс нейромедиаторов в структурах мозга л/о животных. Под влиянием введения кортексина наблюдали повышение содержания ДОФА (на 13%) и ДА (на 43%) в КБП. В СС отмечено снижение содержания ДА на 20% относительно контроля. Предположительно под влиянием кортексина усиливается стимуляция КБП подкорковыми структурами, медиатором нервных термилалей которых является ДА. Это, в свою очередь, может способствовать активации ГАМКергической системы в КБП, чем можно объяснить повышение времени R1 на фоне снижения R4-5, R6, R7 у животных относительно контроля. При введении пинеалона выявлено увеличение уровня А в КБП (на 27%) и в СС (на 43%). Также в КБП установлено возрастание содержания ДА на 40% относительно контроля. Поскольку с возрастом происходит снижение энергетического метаболизма во всем организме и в мозге, в частности, то возрастание содержания А в мозге старых крыс может косвенно свидетельствовать о повышении его энергообеспечения под влиянием пинеалона. На этом фоне повышение энергетического метаболизма в мозге может приводить к наблюдаемому в поведенческом эксперименте снижению пищевого и питьевого поведения под влиянием пинеалона. Кроме того, вероятно, кортексин и пинеалон оказывают седативный эффект через активацию таламокортикальной системы, что способствует повышению R8 и снижению двигательной активности (в основном R7) относительно контроля.

Так, в КБП старых крыс под влиянием введения пинеалона выявлено снижение индекса ДОФА/ДА на 29% по сравнению с контролем. Вероятно, кортексин и пинеалон способствуют активации дофаминергической системы в КБП мозга старых л/о крыс. Однако кортексин реализует свои эффекты и через повышение активности этой системы в СС мозга, а пинеалон – через увеличение А и, вероятно, увеличение энергетического метаболизма в мозге крыс (табл. 2).

Таблица 2

Влияние окклюзии сонных артерий и коротких пептидов на представленность основных форм поведения старых крыс (в с, M±m)

Формы поведения / Серии	R1	R2-R3	R4	R5	R6	R7	R8
Л/О, % от общего времени	1181,3 ± 294,4	190,0 ± 60,9	108,8 ± 35,9	252,5 ± 97,1	838,0 ± 39,5	654,0 ± 3,6	375,0 ± 57,5
ОСА, % от общего времени	1518 ± 180	252,0 ± 87,8	54,0 ± 32,4	36,0 ± 22,1 $p < 0,05$	591,0 ± 75,7 $p < 0,05$	438,0 ± 105,0	711,0 ± 288,6
Кортексин + л/о, % от общего времени	2017,5 ± 499,5 $p < 0,05$	112,5 ± 37,5	48,8 ± 38,9 $p < 0,05$	45,0 ± 28,7	727,5 ± 269,8	292,5 ± 140,8 $p < 0,05$	356,3 ± 141,3
Пинеалон + л/о, % от общего времени	1522,5 ± 289,1	146,3 ± 68,8	22,5 ± 17,9 $p < 0,05$	37,5 ± 37,5	690,0 ± 162,6	401,3 ± 58,5 $p < 0,05$	780,0 ± 192,4 $p < 0,05$
Кортексин + ОСА, % от общего времени	2412,0 ± 109,5 $p < 0,05$	66,0 ± 18,7 $p < 0,05$	51,0 ± 29,9	75,0 ± 75,0 $p < 0,05$	330,0 ± 99,6	90,0 ± 28,5 $p < 0,05$	576,0 ± 192,4
Пинеалон + ОСА, % от общего времени	1902 ± 200,4 $p < 0,05$	67,5 ± 17,6 $p < 0,05$	5,0 ± 5,0 $p < 0,05$	7,5 ± 7,5 $p < 0,05$	495,0 ± 99,7	287,5 ± 82,6 $p < 0,05$	835,0 ± 160,2 $p < 0,05$

Примечание. $p < 0,05$ – достоверные изменения показателей относительно контрольной группы.

В КБП крыс 5-й группы (кортексин + ОСА) происходило изменение содержания ДОФА и ДА в сторону их накопления относительно контроля; в СС мозга выявлено увеличение уровня НА (на 15%) и А (на 57%) по сравнению с 1-й группой. Анализ результатов сравнения соотношений медиаторов показал, что в КБП животных 5-й группы происходило снижение индекса НА/ДА на 22%, а в СС выявлено возрастание данного соотношения на 21% относительно л/о крыс. Следовательно,

в мозге крыс, которым вводили кортексин перед ОСА, происходило изменение функциональной активности медиаторных систем в сторону активации НАергической в КБП, а ДАергической – в СС. Предположительно, наблюдаемое достоверное (но не чрезмерное) повышение содержания НА в КБП крыс, которым вводили кортексин перед ОСА, может быть критерием эффективности действия препарата при стрессе, направленное на снижение интенсивности свободнорадикальных процессов. Нужно отметить, что у животных 5-й группы по сравнению с л/о крысами, которым вводили данный препарат, выявлено возрастание уровня А в СС на 57%. При сравнении со 2-й группой крыс (ОСА) в 5-й группе животных происходило накопление НА (на 87%) и снижение содержания А (на 36%) в КБП. В СС крыс 5-й группы выявлены сходные изменения НА и А, а также отмечали накопление ДА (на 36%) относительно животных 2-й группы. Вероятно, при введении кортексина перед ОСА действие пептида направлено на сохранение энергетических ресурсов, что реализуется через эффекты на функциональное состояние медиаторных систем и поведенческие реакции. Это подтверждают данные литературы, согласно которым кортексин регулирует процессы перекисного окисления липидов в клетках головного мозга, снижает образование свободных радикалов, блокирует процессы свободнорадикального окисления. Данный препарат устраняет дисбаланс тормозных и возбуждающих аминокислот, обладает умеренным ГАМКергическим действием [7].

У животных 6-й группы (пинеалон + ОСА) выявлено накопление ДОФА и ДА в КБП соответственно на 22 и 37% относительно контроля. Тогда как в СС крыс 6-й группы установлено увеличение содержания А на 55% по сравнению с контролем. При этом изменение соотношений медиаторов обнаружено только в КБП, где произошло снижение индекса НА/ДА на 27%. Относительно крыс 2-й группы (ОСА) у животных 6-й группы наблюдали накопление НА на 71% и снижение уровня А на 37% в КБП. У животных 6-й группы (пинеалон + ОСА) относительно л/о крыс, которым вводили пинеалон, установлены изменения только в КБП: содержание А было ниже на 18%, а ДОФА – выше на 24%. Но при этом содержание А у крыс 6-й группы в мозге соответствовало, а содержание ДОФА превышало контроль. Предположительно в основе этих изменений лежит активация процесса гидроксилирования тирозина при участии тирозингидроксилазы, продуктом реакции которой является дигидроксифенилаланин (ДОФА).

Это происходит после того, как выделение катехоламинов сменяется уменьшением их концентрации в нервных терминалях, следовательно, уменьшения аллостерического ингибирования тирозингидроксилазы продуктом синтеза. Так, у крыс 6-й группы установлено возрастание индекса ДОФА/ДА на 26% ($p = 0,01$) в КБП относительно животных 4-й группы (л/о + пинеалон). Относительно 5-й группы животных (кортексин + ОСА) у крыс 6-й группы (пинеалон + ОСА) выявлено накопление ДА в СС. Поэтому значения индексов НА/ДА и ДОФА/ДА у животных 5-й группы были достоверно выше, чем у крыс 6-й группы. Вероятно, с этим связано то, что общий уровень двигательной активности животных 6-й группы был выше относительно крыс 5-й группы.

Выводы

1. У старых крыс введение кортексина и пинеалона перед окклюзией сонных артерий способствует изменению структуры поведения в сторону снижения общей активности и возрастания представленности релаксированного бодрствования.

2. При окклюзии сонных артерий введение кортексина и пинеалона способствует возрастанию содержания адренергических медиаторов: в коре больших полушарий – ДОФА и дофамина, в стволовых структурах – адреналина, а также норадреналина у животных, которым перед ОСА вводят кортексин.

Список литературы

1. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. – СПб.: Наука, 2003. – 247 с.

2. Сопоставление центральных эффектов Кортексина и церебролизина при их введении в желудочки мозга и системно (внутрибрюшинно) / А.А. Лебедев, В.П. Ганапольский, В.П. Павленко и др. // Психофармакол. биол. наркол. – 2006. – Т. 6. – № 3. – С. 1275–1283.

3. Особенности эпифизарно-тимических взаимоотношений при старении / Н.С. Линькова, В.О. Полякова, И.М. Кветной и др. // Успехи геронтологии. – 2011. – Т. 24. – № 1. – С. 38–42.

4. Менджерицкий А.М., Лысенко А.В. Нейропептиды и управление поведением организма в экстремальных условиях // Успехи функциональной нейрохимии. – СПб.: Изд-во СПб. ун-та., 2003. – С. 115–127.

5. Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В. Пептидная регуляция функций нервной системы. Онтогенетический аспект. – Ростов-на-Дону: ИПО ПИ ЮФУ, 2011. – 187 с.

6. Один В.И. Кризис геронтологии: к вопросу о первичном здоровье в XX веке. // Успехи геронтологии. – 2011. – Т. 24. – № 1. – С. 11–23.

7. Рыжак Г.А., Малинин В.В., Платонова Т.Н. Кортексин и регуляция функций головного мозга. – СПб.: Фолиант, 2003. – 208 с.

8. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons.// Physiol. Rev. – 1999. – Vol. 79. – P. 1431–1568.

9. Mishra O.P., Delivoria-Papadopoulos M. Cellular mechanisms of hypoxic injury in the developing brain // Brain Res. Bull. – 1999. – Vol. 48. – P. 233–238.

10. Nyakas C., Buwalda B., Luiten P.G.M. Hypoxia and brain development // Progress in Neurobiology. – 1996. – Vol. 49. – P. 1–51.

References

1. Anisimov V.N. Molekuljarnye i fiziologicheskie mehanizmy starenija. SPb: Nauka, 2003. 247 p.

2. Lebedev A.A., Ganapolskij V.P., Pavlenko V.P. I dr. Sopostavlenie centralnyh jeffektov Korteksina i cerebrolizina pri ih vvedenii v zheludochki mozga i sistemno (vnutribrjushinno) // Psihofarmakol. biol. narkol. 2006. T. 6. no. 3. pp. 1275–1283.

3. Linkova N.S., Poljakova V.O., Kvetnoj I.M. i dr. Osobennosti jepifizarno-timicheskih vzaimootnoshenij pri starenii // Uspehi gerontologii, 2011. T. 24. no. 1. pp. 38–42.

4. Mendzherickij A.M., Lysenko A.V. Nejropeptidy i upravlenie povedeniem organizma v jekstremal'nyh uslovijah // Uspehi funkcional'noj nejrohimii. SPb.: Izd-vo SPb. un-ta., 2003. pp. 115–127.

5. Mendzherickij A.M., Karantysh G.V. Peptidnaja reguljacija funkcij nervnoj sistemy. Ontogeneticheskij aspekt. Rostov-na-Donu: IPO PI JuFU, 2011. 187 p.

6. Odin V.I. Krizis gerontologii: k voprosu o pervichnom zdorov'e v XX veke // Uspehi gerontologii, 2011. T. 24. no. 1. pp. 11–23.

7. Ryzhak G.A., Malinin V.V., Platonova T.N. Korteksin i reguljacija funkcij golovnogo mozga. SPb.: Foliant, 2003. 208 p.

8. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons.// Physiol. Rev. 1999. Vol. 79. pp. 1431–1568.

9. Mishra O.P., Delivoria-Papadopoulos M. Cellular mechanisms of hypoxic injury in the developing brain // Brain Res. Bull., 1999. Vol. 48. pp. 233–238.

10. Nyakas C., Buwalda B., Luiten P.G.M. Hypoxia and brain development // Progress in Neurobiology. 1996. Vol. 49. pp. 1–51.

Рецензенты:

Буриков А.А., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой общей биологии, ФГАОУ ВПО «Южный федеральный университет», г. Ростов-на-Дону;

Черноситов А.В., д.б.н., ведущий научный сотрудник, профессор, ФГУ «Ростовский НИИ акушерства и педиатрии МЗ РФ», г. Ростов-на-Дону.

Работа поступила в редакцию 22.05.2013.