

Вплив поєднаного введення пірацетаму та мемантину на формування механізмів нормалізації поведінкових реакцій у тварин ювенільного віку при гострій гіпоксії

О.Г.КМЕТЬ, Н.Д.ФІЛІПЕЦЬ, Т.І.КМЕТЬ /Буковинський державний медичний університет, кафедра фармакології, кафедра гігієни та екології; ДП НДІ медико-екологічних проблем МОЗ України, Чернівці/

У механізмі розвитку когнітивного дефіциту важливу роль відіграє активація вільнорадикальних процесів, яка призводить до окисної модифікації білків, нуклеїнових кислот, ліпідів, а надалі — до порушення генерації, провідності нервового імпульсу, зниження чутливості та специфічності рецепторних білків, погіршення синаптичної передачі збудження — саме тих процесів, які є відповідальними за фіксацію тимчасових зв'язків [11]. Оксидативний стрес як наслідок гострої гіпоксії головного мозку впливає на різні дефіцити мнестичних і когнітивних функцій. У ряді робіт відмічено, що гіперпродукція активних форм кисню при активації NMDA-рецепторів або біоенергетичних систем мітохондрій в умовах гострої церебральної гіпоксії значно зростає обсяг сприйняття [9]. Таким чином, активація вільнорадикального окиснення є однією з важливих ланок патогенезу нейродеструктивних захворювань. Відомо [10, 12], що мемантин та пірацетам є препаратами, які певним чином впливають на NMDA-глутаматні рецептори.

Мета роботи — вивчити вплив поєднаного введення пірацетаму та мемантину на формування механізмів нормалізації поведінкових реакцій у тварин ювенільного віку за умов гострої гіпоксії.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на статевонезрілих [5] середньостійких до гіпоксії самцях безпородних білих щурів із масою тіла 0,065–0,075 кг. Пірацетам ("Дарниця", Україна) та мемантин ("Акатинол-мемантин", фірма "Мерц", Німеччина) вводили одноразово внутрішньочеревинно у дозах 200 мг/кг [6] і 10 мг/кг [7] відповідно.

Гостру гіпоксичну гіпобаричну гіпоксію моделювали за допомогою проточної барокамери шляхом розрідження повітря до величин, еквівалентних висоті 12 000 м і швидкості 50 м/с. На "висотному плато" щури перебували до моменту другого агонального вгортання, після чого здійснювали "спуск на попередню нульову висоту", відновлюючи нормальний атмосферний тиск і життєдіяльність тварин.

Евтаназію щурів виконували шляхом декапіта-

ції через 30 хвилин після припинення дії гострої гіпоксії та швидко забирали мозок, який зберігали в рідкому азоті до проведення подальших досліджень. Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та стан антиоксидантної системи (АОС) досліджували в гомогенаті тканин фронтальної кори, блідої кулі, хвостатого ядра, гіпокампа, які виділяли на зрізах переднього мозку згідно зі стереотаксичним атласом мозку статевонезрілих щурів.

Інтенсивність ПОЛ оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів (ТБКАП), які визначали в реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою [2]. Кількість ТБКАП розраховували в мікромолях на 1 г тканини. Продукти білкової пероксидації визначали за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином за методом І.Ф.Мещишена [5]. Стан АОС мозку оцінювали за активністю каталази (КФ 1.11.1.6) [7], яку виражали в мікромолях пероксиду водню, що розклався за 1 хв на 1 мг білка. Антигіпоксантну дію препаратів оцінювали за активністю Na^+ , K^+ -АТФази (КФ 3.6.1.3) [8], яка є ключовим ферментом нейронів та характеризує стан енергетичного обміну клітини. Активність даного ферменту виражали в наномолях неорганічного фосфору (Pi), що утворився за 1 хв на 1 мг білка. Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази визначали за методом А.Корнберга і Б.Хорекера [4] в модифікації Ю.Л.Захар'їна [3], виражали її в наномолях НАДФН, який утворився за 1 хв на 1 мг білка. Загальний вплив препаратів і гіпоксії на функціональний стан центральної нервової системи (ЦНС) враховували на підставі змін орієнтовного, емоційного і рухового компонентів поведінки у тесті "відкрите поле" [6].

Для визначення залежності між показниками різних груп даних використовували регресійний аналіз. З метою вивчення зв'язку між показниками прооксидантно-антиоксидантної системи організму та поведінковою активністю тварин, яким перед гіпоксією вводили пірацетам разом із мемантином, ми провели множинний регресійний аналіз [1]. На основі регресійного аналізу отримано рівняння:

$$y = -a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + \dots + a_nx_n, \dots$$

Таблиця 1

Показники значущості (β) та відсоток впливу (d) біохімічних показників кори головного мозку ювенільних щурів при введенні пірацетаму з мемантином в умовах гострої гіпоксії

x_1	0,18	2,8
x_2	0,81	62
x_3	-0,23	4,7
x_4	0,54	27
x_5	-0,20	3,5

де a_0 — вільний член рівняння; $a_1, a_2, a_3, \dots, a_n$ — параметри рівняння, що визначають співвідношення між аргументами $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$ та y_x . Крім того, розраховані коефіцієнти достовірності для коефіцієнтів регресії. Порівняння значущості впливу показників прооксидантно-антиоксидантної системи організму на інтегральну поведінкову активність тварин, яким перед гіпоксією вводили пірацетам з блокаторами глутаматних рецепторів (мемантином та амантадином), проводили за величинами β -коефіцієнтів, а відсоток впливу вивчених показників розраховували за формулою:

$$d = \frac{\beta_i^2}{\sum \beta_i^2} \times 100\%$$

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення

З метою з'ясування зв'язку між змінами досліджених біохімічних показників кори головного мозку та поведінковою активністю у молодих тварин, яким перед гіпоксією вводили пірацетам із мемантином, ми провели множинний регресійний аналіз.

Застосування множинного регресійного аналізу дозволило побудувати регресійні моделі змін функціональної здатності ЦНС у молодих тварин, що можуть відбуватися при введенні пірацетаму із мемантином перед гострою гіпоксією. Зокрема, для досліджуваної групи тварин рівняння регресії було інформаційно здатним та статистично значущим і мало такий вигляд:

$$y = 22,40 + 4,75_{x_1} + 62,83_{x_2} - 1,99_{x_3} - 0,91_{x_4} - 0,65_{x_5}$$

де y — інтегральна поведінкова активність; x_1 — активність каталази; x_2 — активність Na^+, K^+ -АТФази; x_3 — вміст продуктів білкової пероксидації; x_4 — активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази; x_5 — вміст ТБКАП.

Так, результати аналізу показали (табл.1), що нормалізація інтегральної поведінкової активності у тварин, яким перед моделюванням гіпоксії вводили

пірацетам із мемантином, визначається в першу чергу зростанням активності Na^+, K^+ -АТФази, каталази і зменшенням активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази та вмісту продуктів ОМБ і ТБКАП. З отриманих даних бачимо, що гіперпродукція активних форм кисню в умовах гострої гіпоксії значно звужує обсяг сприйняття, ускладнює засвоєння нової інформації, пригнічує мотивації. Однак застосування препаратів з антиоксидантними властивостями попереджає розвиток патологічних процесів у нейроні, які виникають при гострій гіпоксії.

Висновок

Нормалізація поведінкової активності у щурів головного мозку, яким перед гіпоксією вводили пірацетам із мемантином за даними множинного регресійного аналізу відбувається за рахунок зростання активності Na^+, K^+ -АТФази, каталази і зменшення вмісту продуктів пероксидного окиснення білків та ліпідів.

Література

- [1] Абрамець І.І., Комиссаров І.В. Глутаматергические механизмы ишемических повреждений мозга (обзор литературы) // Журн. АМН України. — 2001. — Т.7, №4. — С.613-633.
- [2] Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения: пер. с англ. — М.: Высшая школа, 1991.
- [3] Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. — М.: Наука, 1972.
- [4] Гмиро В.Е., Сердюк С.Е. Поиск избирательных блокаторов NMDA и AMPA/каинатных рецепторов в ряду бис-амониевых соединений с адамантильными радикалами // Эксперимент. и клин. фармакология. — 2000. — Т.63, №1. — С.7-13.
- [5] Захарьин Ю.Л. Метод определения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы // Лаб. дело. — 1967. — №6. — С.327-330.
- [6] Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. — 1988. — №1. — С.16-19.
- [7] Кузин А. М., Руда В. П., Вагабева М. Э. Об аномалиях кривых доза-эффект в области малых доз атомной радиации // Радиология. — 1990. — Т.30, вып.2. — С.215-219.
- [8] Мешишен І.Ф. Метод визначення окиснення до модифікації білків плазми (сироватки) крові // Бюлетень АМН України. — 1998. — Т.2, №1. — С.155-158.
- [9] Kornberg A., Horecker B.L. Glucose-6-P-dehydrogenase // Methods in Enzymology. — 1955. — V.1. — P.329-350.
- [10] Robinson J.D. Interaction between monovalent cations and the (Na^+, K^+)-dependent adenosine triphosphatase // Arch. Biochem. and Biophys. — 1970. — V.139, №1. — P.17-27.