

ВЛИЯНИЕ ГАМК И ПИРАЦЕТАМА НА АТФ-АЗНУЮ АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ МОЗГА И ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПОКИНЕЗИИ

**В.П. АКОПЯН, О.П. СОЦКИЙ, К.Р. МАИЛЯН, Л.В. ЕДИГАРОВА, Д.С. ШАФРАЗЯН,
А.А. ВАСИЛЯН**

Кафедра фармакологии Ереванского Государственного Университета, Армения

При длительном ограничении двигательной активности изменяется активность Mg^{2+} - АТФазы и 2,4-ДНФ-стимулируемой АТФазы митохондрий мозга и печени. Изменения в активности ферментов носят фазный характер и наиболее выражены в сроки, при которых происходят наиболее выраженные сдвиги в обменных процессах.

Введение ГАМК и пирацетама животным на фоне длительного ограничения двигательной активности вызывает тенденцию к "нормализации" активности изученных ферментов.

Ключевые слова: гипокинезия, мозг, печень, митохондрии, АТФаза, ГАМК, пирацетам

ВВЕДЕНИЕ. Ограничение двигательной активности сопровождается глубокими нарушениями обменных процессов в организме [1], что снижает адаптационные возможности, искажая ответы организма на многочисленные экстремальные факторы. Особый интерес представляют исследования ферментных систем, связанных с энергетическим обменом, поскольку жизнедеятельность и способность организма адаптироваться к внешней среде во многом зависят от образования макроэргов в митохондриях [2,3].

Целью данного исследования явилось изучение характера сдвигов в активности Mg^{2+} и 2,4-ДНФ-АТФаз митохондрий мозга и печени белых крыс в условиях гипокинезии (ГК) и попытка фармакологической коррекции выявленных отклонений с помощью ГАМК и пирацетама.

МЕТОДИКА. В работе использованы белые крысы-самцы массой 150-180 г, содержащиеся на обычном пищевом рационе. ГК достигалась помещением крыс в тесные индивидуальные клетки-пеналы из органического стекла, снабженные специальными поилками. Животных забивали на 15, 30 и 45 сутки ГК. За 10 дней до наступления каждого конкретного срока гипокинезии крысам ежедневно внутрибрюшинно вводили ГАМК и пирацетам в дозе 5 мг/кг. Животные были разделены на 4 группы: 1) интактные крысы в качестве общего контроля, 2) контроль ГК конкретного срока, 3) животные, получавшие ГАМК, 4) животные, получавшие пирацетам. Митохондрии мозга и печени выделяли по общепринятым методикам [2]. АТФ-азную активность митохондрий измеряли по количеству неорганического фосфора, освобожденного в течение 30 минут инкубации при $37^{\circ}C$ в среде (объемом 1 мл) содержащей: трис-буфер (рН 7,4) - 5 мМ, KCl - 100 мМ, АТФ- Na_2 - 3 мМ, $MgCl_2$ - 30 мМ или 2,4-ДНФ- 0,1 мМ [4] и митохондриальный белок (100-150 мкг). Неорганический фосфор определяли по методу Якушевой и Орловой [5], белок - по методу Лоури [6].

Полученные данные подвергнуты статистической обработке с применением компьютерных программ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Ограничение двигательной активности во все исследуемые сроки ГК приводит к изменениям активности мембраносвязанных ферментов митохондрий мозга и печени. Направленность сдвигов однотипна для Mg^{2+} -АТФаз митохондрий обоих органов. Подобной закономерности не наблюдается в отклонении характера активности 2,4-ДНФ-АТФаз митохондрий мозга и печени. Так, на 15 и 30 сутки ГК активность Mg^{2+} -АТФазы митохондрий мозга и печени возрастает на 49 и 18% и 72 и 167%, а на 45 сутки - падает на 51 и 12% соответственно по сравнению с группой интактных животных. Разная степень повышения активности Mg^{2+} -АТФазы митохондрий мозга и печени на 15 и 30 сутки ГК и ее понижение на 45 сутки возможно объясняется с одной стороны, функционально-биохимическими особенностями митохондрий обоих органов, с другой - изменением качественного состава субстратов, окисляемых в них. Преимущественное использование организмом в качестве энергетических субстратов свободных жирных кислот приводит к лабилизации структуры митохондрий, разобщению окислительного фосфолирирования, увеличению потребления кислорода, а, следовательно, к изменению активности АТФаз [7]. В однонаправленности сдвигов в активности Mg^{2+} -АТФазы митохондрий обоих органов, по нашему мнению, проявляется универсальность ответа мембранных структур клетки на хронический стресс, в частности, ограничение двигательной активности. Повышение активности Mg^{2+} -АТФазы на 15 и 30 сутки ГК в мозге, возможно, обусловлено накоплением в митохондриальных мембранах фосфатидилэтаноламина, который является модулятором Mg^{2+} -АТФазы [8,9]. По нашим данным, при ГК и особенно в ее ранние сроки в мозге возрастает содержание этой фракции фосфолипидов [10]. Не исключается и роль циркуляторной гипоксии в активации Mg^{2+} -АТФазы митохондрий мозга на ранних этапах развития синдрома ограничения двигательной активности [11]. Изменения активности ДНФ-стимулируемой АТФазы в условиях ГК в тканях мозга и печени не столь однотипны. Так, на 15 и 45 сутки ее активность в митохондриях мозга снижена, причем почти в одинаковой степени (на 20 и 23%), в то время как на 30 сутки наблюдается заметное увеличение активности (на 50%). В печени во все исследуемые сроки отмечается повышение ее активности.

Таблица. Изменения в активности АТФаз в митохондриях мозга и печени в различные сроки гипокинезии (в мкмоль P_H на 1 мг белка за 1 час $m \pm m$, $n=12$)

АТФ-аза	Ткань	Контроль	ГИПОКИНЕЗИЯ, в сут		
			15	30	45
2,4-ДНФ-стимулируемая	МОЗГ	$0,9 \pm 0,08$	$0,72 \pm 0,03^*$	$1,35 \pm 0,06^{**}$	$0,68 \pm 0,04$
Mg^{2+} -стимулируемая		$1,46 \pm 0,05$	$2,18 \pm 0,05^{**}$	$1,72 \pm 0,07^*$	$0,72 \pm 0,03^{**}$
2,4-ДНФ-стимулируемая	ПЕЧЕНЬ	$0,6 \pm 0,06$	$0,83 \pm 0,3^*$	$1,83 \pm 0,04^{**}$	$0,78 \pm 0,05^*$
Mg^{2+} -стимулируемая		$0,55 \pm 0,08$	$0,95 \pm 0,02^*$	$1,47 \pm 0,09^{**}$	$0,51 \pm 0,02$

Примечание: $^* - p < 0,05$, $^{**} - p < 0,01$, n -число определений.

Таким образом, экспериментальная ГК вызывает изменения АТФазной активности митохондрий мозга и печени.

Вскрытые отклонения в активности митохондриальных АТФаз, свидетельствующие о нарушениях в энергетическом обмене при ГК, обосновывают

необходимость применения препаратов, нивелирующих негативное влияние хронического стресса. В качестве средств фармакологической коррекции выявленных сдвигов в митохондриальных АТФазах, вызванных ГК, мы избрали ГАМК и пирацетам.

Введение ГАМК и пирацетама способствует заметному снижению активности Mg^{2+} -АТФазы мозга на 15 и 30 сутки ГК по сравнению с исходным уровнем (рис.1). Тенденция к "нормализации" активности данного фермента под действием препаратов была менее выражена на 45 сутки ГК.

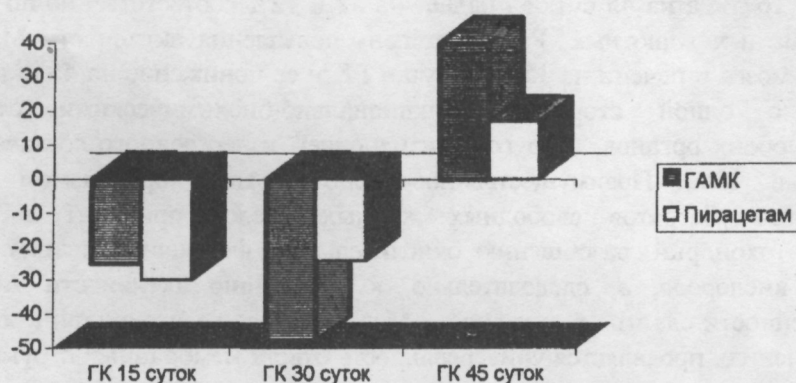


Рисунок 1.

Влияние ГАМК и пирацетама на активность Mg^{2+} АТФазы мозга в различные сроки гипокинезии. По оси ординат - изменение активности фермента в % к контролю (ГК), по оси абсцисс - время действия гипокинезии.

Влиянию этих ноотропов на Mg^{2+} -АТФазу митохондрий печени посвящен рис.2. Особенно четко выражен эффект ГАМК на 15 и 45 сутки. При сопоставлении эффектов этих препаратов на активность Mg^{2+} -АТФазы митохондрий мозга и печени, видно, что выбранные ноотропы активны также и в отношении фермента, выделенного из печеночной ткани, хотя эффект пирацетама был менее заметен в печени.

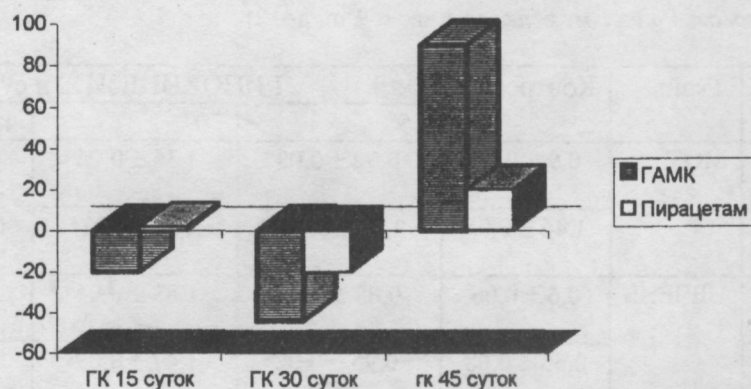


Рисунок 2.

Влияние ГАМК и пирацетама на активность Mg^{2+} стимулируемой АТФазы печени в различные сроки Гк.

По оси ординат - изменение активности фермента в % к контролю (ГК), по оси абсцисс - время действия гипокинезии.

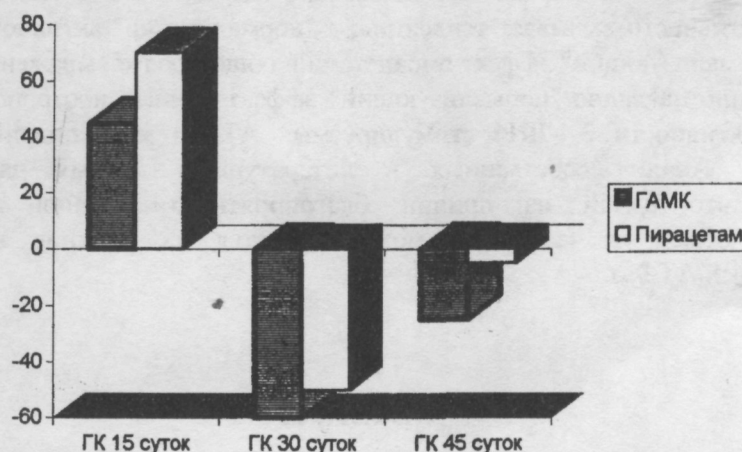


Рисунок 3

Влияние ГАМК и пирацетама на активность 2,4-ДНФ-стимулируемой АТФазы мозга в различные сроки ГК. По оси ординат - изменение активности фермента в % к контролю (ГК), по оси абсцисс - время действия гипокинезии.

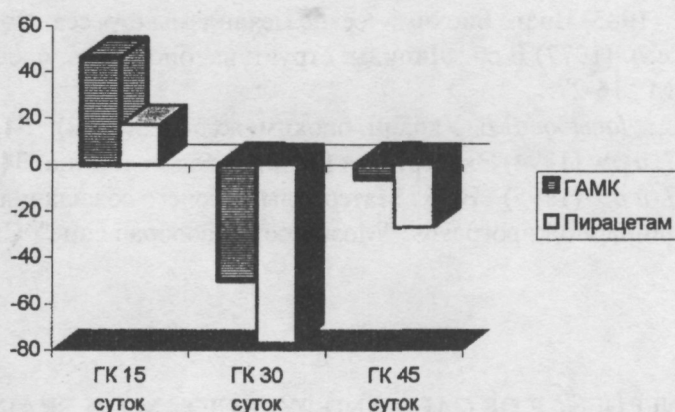


Рисунок 4.

Влияние ГАМК и пирацетама на активность 2,4-ДНФ-стимулируемой АТФазы мозга в различные сроки ГК. По оси ординат - изменение активности фермента в % к контролю (ГК), по оси абсцисс - время действия гипокинезии.

Изучение влияния этих препаратов на 2,4-ДНФ-стимулируемую АТФазу (рис.3, 4) показало, что "нормализующий" эффект в отношении сдвигов в активности фермента прослеживается не только в митохондриях мозга, но и печени, за исключением 45 суток ГК, на фоне которой эти препараты, хотя и в разной степени понижают активность 2,4-ДНФ-стимулируемой АТФазы митохондрий мозга.

Таким образом, наши исследования свидетельствуют о том, что при длительном ограничении двигательной активности изменяется активность Mg^{2+} -АТФаз и 2,4-ДНФ-стимулируемой АТФаз митохондрий мозга и печени. Изменения в активности ферментов носят фазный характер и наиболее выражены в сроки, при которых происходят наиболее выраженные сдвиги в обменных процессах [10].

Введение ГАМК и пирацетама животным на фоне длительного ограничения двигательной активности вызывает тенденцию к "нормализации" активности изученных ферментов. "Нормализующий" эффект пирацетама в общем более выражен по сравнению с ГАМК. Особенно наглядно "нормализующий" эффект данных ноотропов проявляется на сдвигах в активности 2,4-ДНФ-стимулируемых АТФаз митохондрий, выделен из обоих органов. Анализ собственных и литературных данных дает основание предположить, что одной из причин благоприятного влияния ноотропов на энергетический обмен, в частности, мозга, является их влияние на активность митохондриальных АТФаз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тигранян Р.А. (1985). В сб: Метаболические аспекты проблемы стресса в космическом полете.- М., 52, 11-23.
2. Ещенко Н.Д. (1982) В кн: Методы биохимических исследований. Л., 29-32.
3. Меерсон Ф.З. (1984) В кн.: Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. М., 102-108.
4. Говорова Л.В. (1977) Вопросы мед.химии, 23, 302-303.
5. Якушева И.А., Орлова Л.И. (1970) Лаб.дело. 8, 497-501.
6. Lowry O.H. et al. (1951) J. Biol. Chem. 193. 265-275
7. Панин Л.Е. (1983) В кн.: Биохимические механизмы стресса, Новосибирск, 231.
8. Бурлакова Е.Б. (1977) В сб.: Липиды: структура, биосинтез, превращения и функции. М., 16-27.
9. Якушев В.С., Давыдов В.В. Украин. биохим. журнал. (1982). 54, 389-394.
10. Акопян В.П. и др. (1994) Эксперим. и клиническая медицина. 34, №4. 74-81.
11. Акопян В.П. и др. (1995) . В сб.: Материалы рабочего совещания по междисциплинарной программе "Мозговое кровообращение". Санкт-Петербург., 1

THE INFLUENCE OF GABA AND PYRACETAM ON BRAIN AND LIVER MITOCHONDRIAL ACTIVITY IN EXPERIMENTAL HYPOKINESIA CONDITION

AKOPYAN V.P., SOTSKI O.P., MAILIAN K.R., YEDIGAROVA L.V.,
SHAFRAZIAN D.S., VASILIAN A.A.

Department of Pharmacology of the Yerevan State Medical University, Armenia

Long-term hypokinesia is accompanied by changes in the activity of Mg^{2+} and 2,4 - dinitrophenol (DNP) - stimulated ATPases of rat brain and liver mitochondria. These changes are phasic and especially pronounced at periods characterised by most pronounced metabolic alterations. Treatment of animals with GABA and pyracetam tends to normalise the enzyme activities.

Key words: hypokinesia, brain, liver, mitochondria, ATPase, GABA, pyracetam