

СОДЕРЖАНИЕ МОНОАМИНОВ ПРИ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ И ЗАЩИТНОМ ЭФФЕКТЕ ПИРАЗИДОЛА

И.А. ГОРОШИНСКАЯ, И.В. НЕСКУБИНА

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт
344037 Ростов-на-Дону, 14 линия 63, РНИОИ. Тел. (863-2) 53-97-36.

Исследованы острая гипоксия (9000 м над уровнем моря, 3 ч) и периодическая гипоксия (5000 м, 4 ч в течение 3 и 10 дней). При острой гипоксии отмечено увеличение содержания серотонина, дофамина и норадреналина в мозге, сопровождающееся уменьшением дезаминированного продукта. Для периодической гипоксии характерно увеличение содержания моноаминов в гипоталамусе на начальном этапе и их снижение в гипоталамусе и надпочечниках при 10-кратном гипоксическом воздействии, по-видимому, обусловленное в значительной степени превращением моноаминов по моноаминоксидному пути. Введение ингибитора МАО типа А пиразидола при острой и периодической гипоксии способствует повышению содержания серотонина в мозге, оказывает нормализующее действие на содержание катехоламинов и улучшает общее состояние животных.

Ключевые слова: гипоксия, повышение устойчивости, моноаминоксидаза, пиразидол, катехоламины, серотонин.

ВВЕДЕНИЕ. Важная роль моноаминергических систем в регуляции гомеостаза обуславливает интерес к их изучению при гипоксии и адаптации к ней. Функционирование моноаминергических систем в значительной степени определяется состоянием моноаминоксидазы (МАО), ключевого фермента обмена серотонина, норадреналина и дофамина, обеспечивающего выполнение ими медиаторных и гормональных функций.

Работами проф. В. З. Горкина установлено явление, названное трансформацией МАО и заключающееся в качественном изменении ее каталитических свойств в условиях, способствующих окислению сульфгидрильных групп фермента [1,2,3].

Нами показано, что при разных экстремальных условиях, в том числе при гипобарической гипоксии (1- или 3-часовое пребывание крыс на высоте 9000 м) и ишемии головного мозга, изменяется субстратная специфичность МАО типа А - снижается активность и сродство к специфическим субстратам: серотонину и норадреналину и фермент приобретает способность дезаминировать необычные для себя субстраты: ди- и полиамины, гистамин, АМФ, аминсахара, ГАМК [4,5]. Это, по-видимому, может привести к дискоординации работы медиаторных систем, поскольку функционирование практически всех основных медиаторов (за исключением ацетилхолина) и некоторых модуляторов начинает зависеть от МАО. Кроме того, изменение каталитических свойств МАО способствует интенсификации перекисного окисления липидов (ПОЛ) вследствие образования в ходе реакций, катализируемых МАО, продуктов с прооксидантными свойствами (H_2O_2 , дезаминированные продукты субстратов МАО типа Б и субстратов трансформированной МАО типа А). Как следствие

усиления ПОЛ мембран и дезаминирования аminosахаров, являющихся структурными компонентами мембран, происходит дестабилизация мембран [6].

Приведенные данные свидетельствуют о том, что комплекс метаболических нарушений, происходящих в результате изменения субстратной специфичности MAO, может рассматриваться в качестве одной из стресс-реализующих систем организма. Это позволяет предположить, что предотвращение нарушения или нормализация каталитических свойств MAO будет препятствовать развитию патологических изменений и способствовать повышению резистентности организма к действию неблагоприятных факторов среды. Нами исследована возможность использования ингибитора MAO типа A пиразидола в качестве защитного вещества при острой гипоксии и его влияние на процесс адаптации к периодической гипоксии. Пиразидол, будучи ингибитором MAO типа A, обратимо блокирует ее каталитические центры и в результате препятствует изменению субстратной специфичности этой формы фермента при экстремальных воздействиях. Преимущество пиразидола заключается в том, что он, в отличие от необратимых ингибиторов MAO, хорошо переносится организмом и является разрешенным Фармкомитетом лекарственным средством, оказывающим регулирующее действие на ЦНС [7]. Ранее нами показана возможность использования пиразидола в качестве антигипероксического протектора при лечении методом оксигенобаротерапии [8].

В опубликованных ранее работах представлены результаты исследования уровня моноаминов при острой гипоксии [9] и периодической гипоксии [10]. В настоящей работе продолжено изучение участия моноаминов в развитии стрессорной реакции организма и в процессах адаптации. С целью установления роли моноаминергических процессов в ответной реакции организма на гипоксическое воздействие нами сопоставлены уровень моноаминов и интенсивность их метаболизма при разных режимах гипоксии. Основными этапами работы были: изучение содержания серотонина, дофамина, норадреналина, а также продукта превращения серотонина по моноаминоксидазному пути 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК), во-первых, при острой гипоксии, во-вторых, на разных этапах адаптации к периодической гипоксии, в-третьих, исследование возможности повышения устойчивости к гипоксическому фактору с помощью ингибитора MAO типа A пиразидола.

МЕТОДИКА. Объектом исследования служили белые беспородные крысы - самцы массой 180-240 г. Моделирование гипобарической гипоксии осуществляли в проточной камере, снабженной манометром и предохранительным клапаном, а также смотровым окошком. Для поглощения углекислого газа, выдыхаемого животными, в камеру помещали щелочной поглотитель. Скорость компрессии и декомпрессии - 0,005 МПа/мин. При острой гипоксии в камере создавали атмосферное давление 0,029 МПа, что соответствует "подъему" на высоту 9000 м над уровнем моря. Время экспозиции 3 часа. Периодической гипоксии, соответствующей высоте 5000 м над уровнем моря (0,054 МПа), животных подвергали ежедневно по 4 ч в течение 3 и 10 суток. Предварительно животных "поднимали" на высоту 2000 и 4000 м. Пиразидол, как при острой, так и при периодической гипоксии, вводили внутривентриально в дозе 25 мг на 1 кг массы животных. В случае острой гипоксии пиразидол вводился трижды: 2 раза накануне опыта с интервалом между инъекциями - 6 ч в день опыта за 30 мин до помещения животных в камеру или за 3,5 ч до декапитации. При периодической гипоксии пиразидол вводился накануне первого "подъема" и затем за 30 мин перед каждым "подъемом" на высоту. При 3-кратной гипоксии животные получали 6 инъекций пиразидола: перед началом эксперимента, перед "подъемом" на высоту 2000 и 4000 м, а также перед каждым из 3-х "подъемов" на высоту 5000 м. Животные, подвергшиеся 10-кратной гипоксии, получали 13 инъекций пиразидола.

Содержание серотонина, 5-ОИУК, дофамина и норадреналина определяли по методу Б.М. Кагана и Н.В. Нечаева [11] на флуориметре "Hitachi 650-60". В случае

острой гипоксии исследование проводили в гомогенате целого мозга, а при периодической гипоксии в гипоталамусе и коре больших полушарий головного мозга, а также в надпочечниках.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Как видно из данных, представленных на рисунке 1, при гипоксии, соответствующей высоте 9000 м, наблюдается увеличение содержания всех изученных нами моноаминов в мозге крыс. Происходящее при этом снижение содержания 5-ОИУК свидетельствует об ингибировании моноаминоксидазного пути превращения серотонина и согласуется с обнаруженным ранее при данном режиме гипоксии снижении активности MAO митохондрий мозга с субстратом серотином [4].

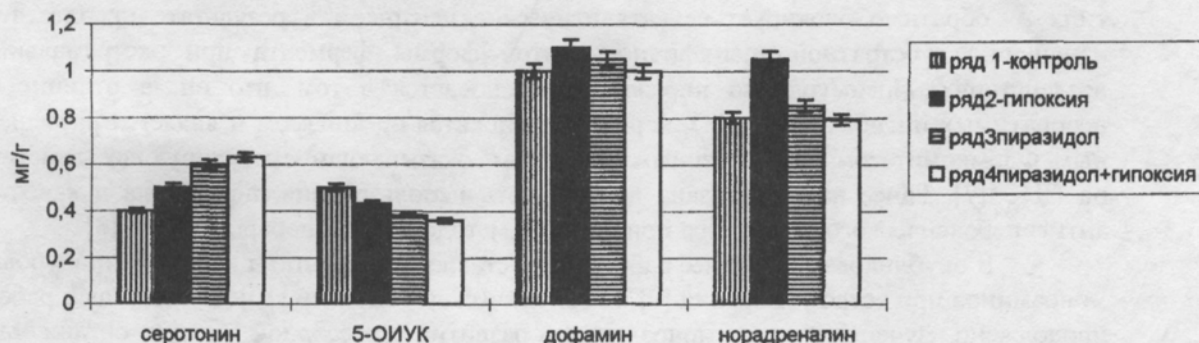


Рисунок 1.

Содержание серотонина, 5-ОИУК, дофамина и норадреналина в мозге крыс при острой гипоксии и введении пиразидола.

При введении пиразидола интактным животным происходит увеличение содержания серотонина, сопровождающееся снижением содержания 5-ОИУК. Увеличение уровня моноаминов с одновременным снижением содержания 5-ОИУК предполагает, что причиной повышения содержания моноаминов может быть ингибирование MAO, в первом случае — под влиянием гипоксии, а во втором — пиразидола. Содержание катехоламинов в мозге не изменяется при введении пиразидола интактным животным. Это может быть связано с более выраженным влиянием пиразидола на серотонинергическую систему по сравнению с адренергической [12].

При действии гипоксии на фоне введения пиразидола все исследованные показатели не отличаются достоверно от соответствующих величин у интактных животных с введенным пиразидолом. При этом, введение пиразидола предотвращает увеличение содержания дофамина и норадреналина под влиянием гипоксии. Уровень катехоламинов достоверно не отличается от контроля. Как и у интактных животных, введение пиразидола при гипоксии вызывает увеличение содержания серотонина и снижение содержания 5-ОИУК. В проведенных ранее исследованиях установлен защитный эффект пиразидола при острой гипоксии. Введение пиразидола повышало переносимость животными высоты 12000 м над уровнем моря и оказывало нормализующее действие на эритроцитарные мембраны и состояние легких при гипоксии, соответствующей высоте 9000 м в течении 3 часов [13].

Таким образом, при острой гипоксии нами обнаружено увеличение содержания серотонина, дофамина и норадреналина в мозге. Предварительное введение пиразидола оказывало нормализующий эффект на содержание катехоламинов в мозге.

Второй этап работы посвящен изучению влияния пиразидола на исследуемые биохимические показатели при многократной прерывистой гипоксии. Исследовали трехкратное и десятикратное 4-часовое воздействие гипоксии, соответствующее высоте 5000 м над уровнем моря, что осуществлялось путем ежедневных "подъемов" на высоту:

первый день - 2000 м, второй день 4000 м и затем 3 или 10 дней - 5000 м. Адаптация к гипоксии при таком режиме достигается после 30-40 сеансов.

Трехкратный "подъем" животных на высоту 5000 м сопровождается снижением содержания норадреналина в коре головного мозга, содержание дофамина, серотонина и продукта его дезаминирования - 5-ОИУК не изменяется. В гипоталамусе содержание дофамина, серотонина и 5-ОИУК увеличивается, уровень норадреналина достоверно не отличается от контроля. Увеличение содержания катехоламинов в гипоталамусе на фоне усиления их метаболизма указывает на активацию адренергического звена стресс-реакции. Происходящее при этом возрастание 5-ОИУК свидетельствует об усилении превращения серотонина по моноаминоксидазному пути (Рис.2). Еще более значительное увеличение содержания 5-ОИУК наблюдается в надпочечниках (Рис. 3).

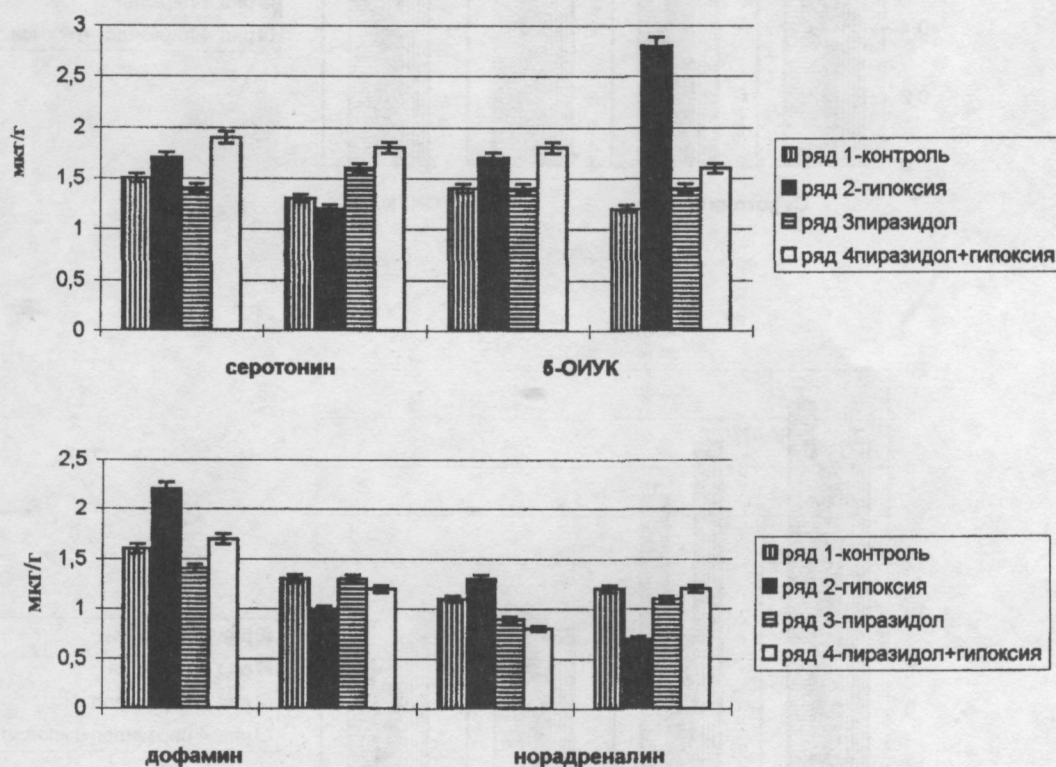


Рисунок 2.

Содержание серотонина, 5-ОИУК, дофамина и норадреналина в гипоталамусе мозга крыс при периодической гипоксии и введении пиразидола.

Введение пиразидола не вызывает существенных изменений в содержании моноаминов у интактных животных и, в то же время, оказывает нормализующее действие на содержание моноаминов, изменяющихся под влиянием гипоксии. При этом отмечается нормализация как снижающегося в коре содержания норадреналина, так и увеличивающегося в гипоталамусе содержания дофамина. Содержание в гипоталамусе норадреналина у защищенных пиразидолом животных также достоверно ниже, чем у незащищенных крыс, подвергнутых гипоксии, и не отличается от контрольного уровня (Рис. 2).

Можно думать, что при данном режиме пиразидол оказывает нормализующее действие на активность адренергической системы мозга: при ее увеличении тормозит, а при снижении уровня медиаторов способствует его восстановлению. Это согласуется с литературными данными об активирующем действии пиразидола на центральную

нервную систему при депрессивных состояниях, и тормозном - при возбуждении [7].

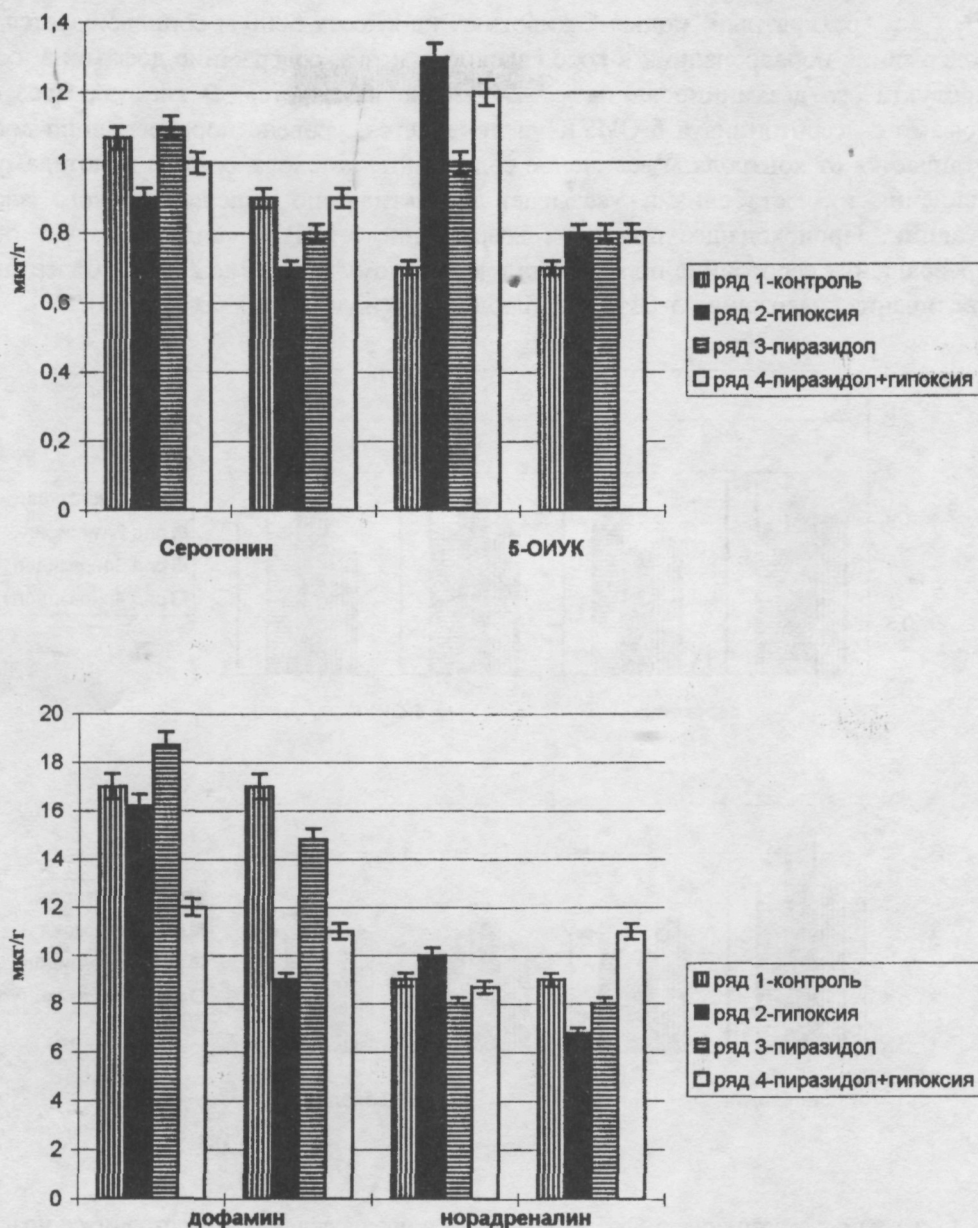


Рисунок 3.

Содержание серотонина, 5-ОИУК, дофамина и норадреналина в надпочечниках крыс при периодической гипоксии и введении пиразидола.

Увеличение продолжительности гипоксического воздействия до 10 сеансов приводит к снижению содержания моноаминов в гипоталамусе (Рис. 2) и надпочечниках (Рис. 3). Одной из причин этого снижения, возможно, является увеличение превращения моноаминов по моноаминоксидазному пути, о чем свидетельствует увеличение содержания 5-ОИУК в гипоталамусе в 2,5 раза.

Введение пиразидола при 10-кратной гипоксии препятствует снижению содержания моноаминов в гипоталамусе (Рис. 2) и надпочечниках (Рис. 3). При этом в надпочечниках содержание норадреналина достоверно превышает контрольный уровень.

Следует отметить, что увеличение содержания катехоламинов в надпочечниках соответствует увеличению физиологической мощности стресс-реализующей симпатико-

адреналовой системы, что характерно для адаптации к стрессу [14]. На стадии истощения, содержание катехоламинов, напротив, резко снижается [15].

Сопоставляя полученные нами результаты с приведенными литературными данными, можно прийти к заключению, что уже после 10-кратной гипоксии наблюдаются признаки истощения функциональных возможностей надпочечников, что сказывается на снижении содержания моноаминов не только в надпочечниках, но и в гипоталамусе. Введение пиразидола препятствует этому снижению и приводит к увеличению уровня норадреналина в надпочечниках выше контрольных значений, что позволяет думать о характерном для адаптации усилении мощности адренергической системы. Таким образом, введение пиразидола способствует ускорению процесса адаптации.

Наиболее выраженные изменения обнаружены нами в гипоталамусе: после 3-кратного "подъема" на высоту 5000 м, содержание дофамина, норадреналина и серотонина увеличивается, а затем, после 10-кратного "подъема", наблюдается снижение их содержания. Пиразидол предотвращает фазные изменения катехоламинов. Гипоксическое воздействие на фоне пиразидола не сопровождается увеличением содержания катехоламинов после 3-кратного "подъема" и снижением после 10-кратного. Содержание серотонина в гипоталамусе оказывается повышенным при введении пиразидола как при 3-кратной, так и 10-кратной гипоксии. Увеличение серотонина при введении пиразидола обнаружено также в коре головного мозга после 10-кратной гипоксии. При изучении влияния пиразидола на состояние животных выявлено, что и при периодической гипоксии пиразидол обладает выраженным защитным эффектом, его введение предотвращает снижение массы тела животных, поражение легких, оказывает антистрессорное и мембраностабилизирующее действие, обладает антиоксидантным эффектом, нормализуя интенсивность ПОЛ, активируя супероксиддисмутазу (СОД) и увеличивая содержание в крови половых гормонов и молекул средней массы, также обладающих выраженным антиоксидантным действием [10,16,17,18].

Механизм защитного действия пиразидола может быть связан, во-первых, с прямым антиоксидантным эффектом, поскольку в модельных экспериментах показана дозозависимая способность пиразидола ингибировать интенсивность хемилюминесценции сыворотки крови [19]. Известно, что катехоламины, выходящие из адренергических терминалей и надпочечников, способствуют накоплению H_2O_2 и стимуляции перекисного окисления липидов, то есть развитию так называемого, перекисного стресса [20]. В этой связи интерес представляют полученные нами данные об увеличении под влиянием пиразидола количества среднемолекулярных пептидов (СМП) в плазме крови [18]. Согласно исследованиям последних лет, СМП обладают выраженной антиоксидантной активностью [21,22]. При введении пиразидола содержание СМП возрастает в 2-3 раза как у интактных, так и у подвергнутых острой гипоксии животных. У животных, подвергнутых 3-кратной гипоксии на фоне пиразидола, содержание СМП увеличивается почти вдвое. Увеличение содержания СМП обнаружено также у животных, адаптированных к гипоксии (периодическая адаптация - 40 воздействий, 4000 м над уровнем моря, 5 ч) [18]. Во-вторых, эффект пиразидола, несомненно, обусловлен его влиянием на МАО. Ингибируя дезаминирование моноаминов и предотвращая изменение субстратной специфичности МАО при гипоксии, пиразидол препятствует усилению интенсивности ПОЛ [17]. Введение пиразидола снижает образование H_2O_2 , предотвращает дезаминирование МАО диаминов и других необычных субстратов, продукты дезаминирования которых обладают прооксидантным действием, и увеличивает содержание серотонина, являющегося антиоксидантом и медиатором одной из основных стресс-лимитирующих систем организма. Активация серотонинергической и связанной с ней опиоидной систем ограничивает стресс-реакцию и предупреждает ее повреждающие эффекты [14]. Обнаруженное нами более, чем

полуторное повышение содержания серотонина при введении пиразидола, как у интактных животных, так и у подвергнутых действию гипоксии, позволяет предполагать важное значение серотонина в механизме защитного эффекта пиразидола при гипоксии. При этом у защищенных пиразидолом животных в условиях гипоксии не наблюдается увеличения содержания катехоламинов в мозге и снижения уровня аскорбиновой кислоты в надпочечниках [9,10], что указывает на ограничение стресс-реакции. Следовательно, введение пиразидола можно рассматривать как способ активации серотонинергической стресс-лимитирующей системы.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о положительном влиянии пиразидола на состояние животных при гипоксии. Его введение ограничивает стресс-реакцию, препятствует снижению прироста массы животных, оказывает нормализующее действие на легкие, стабилизирует мембраны, нормализует содержание катехоламинов в мозге, способствует адаптационному увеличению потенциальной мощности симпатико-адреналовой системы и активации серотонинергической стресс-лимитирующей системы.

Финансирование исследований проводилось по гранту Б-41-7 Министерства науки, высшей школы и технической политики России.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горкин В.З. (1976) Молекулярная биология. 10, (4), 717-726.
2. Горкин В.З. (1985), Нейрохимия. 4, (1), 68-79.
3. Горкин В.З., Камышанская Н.С., Киркель А.З., Медведев А.Е., Москвитина Т.А. (1995), Вестник РАМН. № 2. 12-17.
4. Горошинская И.А., Бронюцкая З. Г., Кричевская А.А., Кабарухина Е.Г. (1982), Нейрохимия. 1, (3), 282-286.
5. Горошинская И.А., Стоянович Т., Мичич Д.В., Мршуля Б.Б. (1989) Вопр. мед. химии. 35, 5. 112-115.
6. Горошинская И.А. (1989), Вопр. мед. химии. 35, (2), 2-10.
7. Машковский М.Д. (1985), Лекарственные средства, Медицина. М. 1, с. 90-103
8. Горошинская И.А., Цветненко Е.З., Ходакова А. А., и др.(1991), Анестезиология и реаниматология. № 1, 53-54.
9. Горошинская И.А., Немашкалова Л.А., Ходакова А.А., Сорокина И.В. (1994), Вопр. мед. химии. 40, (1), 16-18.
10. Горошинская И.А., Немашкалова Л.А., Ходакова А.А., Сорокина И.В. (1993), Физиол. журн. им.Сеченова. 79, (10), 67-73.
11. Каган Б.М., Нечаев Н.В. (1979), Лаб. дело. № 5, 301-303.
12. Паршин В.А., Головина С.М., Андреева Н.И. (1987), Бюлл. экспер. биол. и мед. №8, 178-180.
13. Горошинская И.А., Немашкалова Л.А., Ходакова А.А., Шерстнев К.Б. (1992), Бюлл. экспер. биол. №9, 268-269.
14. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. (1989), Стресс-лимитирующие системы организма и новые принципы профилактической кардиологии. Обзорная информация. Медицина и здравоохранение. Серия: Проблемы кардиологии. М. №3, 72.

15. Хайсман Е.Б., Арефолов В.А., Маликова Л.А. (1988), Бюл. exper. биол. и мед. **105**, (3), 302-305.
16. Горошинская И.А., Могильницкая Л.В., Немашкалова Л.А., Ходакова А.А. (1993), Биохимия. **58**, 62-70.
17. Горошинская И.А., Могильницкая Л.В. (1994), Биохимия. **59**, 974-982.
18. Горошинская И.А., Виноградов А.К., Лукаш А.И. (1994) Вопр. мед. химии. **40**, (4), 19-21.
19. Горошинская И.А., Цветненко Е.З., Дмитриев В.В., Ходакова А.А. (1990). Биофизика. **35**, 885-886.
20. Колесниченко Л.С., Кулинский В.И. (1990) Физиол. журн. СССР. **76**, 1418-1425.
21. Вальдман Б.М., Волчегорский И.А., Пужевский А.С., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. (1991) Вопр. мед. химии. **37** (1), 23-26.
22. Волчегорский И.А., Вальдман Б.М., Скобелева Н.А., и др. (1991) Вопр. мед. химии. **37** (2). 28-32.

THE CONTENTS OF MONOAMINES UNDER HYPOBARIC HYPOXIA AND THE PROTECTIVE EFFECT OF PYRAZIDOL

I.A. GOROSHINSKAYA, I.V. NESKUBINA

Rostov Research Oncology Institute 14 th line 63, Rostov-on-Don, 344037 Russia
Fax: (863 2) 53-83-94

The effects of single acute hypoxia (9000 m above sea the level, 3h) and intermittent hypoxia (5000 m 4 h daily during 3 and 10 days) were studied. Acute hypoxia was characterized by the increase in the content of brain serotonin, dopamine and norepinephrine accompanied by a decrease of deaminated product. The increase of monoamine contents in hypothalamus and adrenals during initial stage caused to considerable extent by their deamination and the monoamine decrease under 10-day hypoxia were typical for intermittent hypoxia. The administration of MAO A inhibitor pyrazidol promoted the increase in brain serotonin content, normalized brain catecholamine contents and demonstrated positive effect on the animal state.

Key words: hypoxia, increase of resistance, monoamine oxidase, pyrazidol, catecholamines, serotonin.