

Особливості білкового метаболізму пренатально алкоголізованих щурів при введенні їм похідного аза-15-краун-5-етеру з ноотропною активністю

Т.Л. Карасьова*, Ж.М. Цапенко, С.С. Басок

Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України
вул. Люстдорфська дорога, 86, Одеса, 65080, Україна

Резюме. Досліджено вплив краун-етеру (КЕ) з ноотропною активністю на особливість білкового метаболізму пренатально алкоголізованих щурів. Встановлено, що КЕ усуває порушення білоксинтезуючої системи в постнатальному періоді, що виражається в збільшенні вмісту білків та їх фракцій, активації білкового синтезу в більшості відділів головного мозку щурів. Дія КЕ на метаболізм білків ЦНС виявляється через 2 місяці після припинення його введення, що вказує на глибокі зміни регуляторних нейрохімічних механізмів на ранніх етапах постнатального онтогенезу.

Ключові слова: краун-етер, пренатальна алкоголізація, вміст білків мозку, білковий синтез.

Вступ. Фізичне недорозвинення, різного роду каліцтва, розлади діяльності внутрішніх органів, затримки й порушення психічного розвитку, різноманітні вроджені захворювання центральної нервової системи є наслідками пияцтва та алкоголізму у людини [1]. Результати численних експериментальних і клінічних досліджень свідчать про те, що внутрішньоутробний вплив етанолу є однією з причин ембріо- та фетопатій [2].

Алкоголізація у внутрішньоутробному періоді пошкоджує білоксинтезуючу систему різних органів організму, який розвивається. При цьому відзначено зниження вмісту та швидкості синтезу білків і кількості нуклеїнових кислот [3]. Аналіз літературних даних дає підстави говорити про спільність патогенетичних механізмів внутрішньоутробної дії етанолу на людей і тварин, а отже, і про правомірність використання в клінічних дослідженнях знань, отриманих в експериментах [4]. Відомо, що під впливом етанолу також суттєво

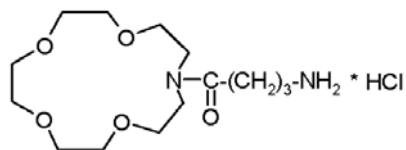
порушується обмін білків у мозку статевозрілих тварин.

Аналогічні дії етанолу чинить і у внутрішньоутробному періоді. Результати окремих досліджень свідчать про шкідливу дію пренатальної алкоголізації на метаболізм білків у мозку новонароджених щурят і в ранньому постнатальному періоді. Якщо відомості про обмін білків мозку при безпосередньому впливі етанолу висвітлено в літературі досить повно, то про вплив алкоголю на білковий метаболізм у різних органах (особливо в мозку) статевозрілих тварин в постнатальному періоді викладено вкрай недостатньо. За даними ряду авторів, ноотропний препарат пірацетам виявився ефективним засобом для корекції порушень білкового метаболізму в мозку тварин, які перенесли дію етанолу [5].

Під час проведених нами раніше досліджень було встановлено, що субхронічне введення (7 діб) N-(γ -амінобутирил-1-аза-4,7,10,13-тетраоксациклопентадекану гідрохлориду (КЕ), в якому аза-15-краун-5-етер ковалентно зв'язаний з γ -аміномасляною кислотою, збільшує вміст білка і нуклеїнових кислот в окремих структурах головного мозку інтактних щурів, а також призводить до суттєвої акти-

* Corresponding author.
Tel./fax: +380487662044
E-mail address: tkaraseva1@gmail.com

вації синтезу білків в неокортексі та гіпокампі:



Як було показано раніше, КЕ поряд із вираженим ноотропним ефектом, який переверщує за деякими показниками такий в існуючих препаратах (пірацетамі, центрофеноксині, піритинолі та ін.), відзначається більш широким спектром протигіпоксичних властивостей, вираженою анксиолітичною, антиагресивною і протисудомною дією [6].

З огляду на те, що більшість ноотропних препаратів проявляють свою дію при тривалому застосуванні й особливо ефективні в умовах патології (ішемії, гіпоксії, травматичних пошкодженнях мозку, а також алкогольної ембріопатії [7, 8]), метою нашої наступної роботи було вивчення впливу КЕ на обмін білків в головному мозку щурів в умовах експериментальної внутрішньоутробної алкоголізації.

Матеріали і методи. Дослідження проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 160-180 г тримісячного віку. Експерименталь-

них тварин утримували в стандартних умовах на повноцінній дієті. Для спарювання в клітку із трьома самками поміщали двох самців, це співвідношення підтримували впродовж усього періоду спарювання, який продовжувався 7 днів. Початком вагітності вважався день до появи сперматозоїдів у вагінальних мазках. З 5 по 20 день вагітності щури отримували перорально розчин етанолу 7 г/кг/день, тварини контрольної групи — розчин сахарози.

Щурята-самці були розділені на 2 групи: контрольній з 5 по 30 день вводили *per os* фізіологічний розчин, експериментальній — КЕ в дозі 25 мг/кг (ЕД₅₀ — доза, що була встановлена нами раніше в експерименті) [6]. У тримісячному віці оцінювали швидкість синтезу білків радіоізотопним методом із використанням як попередників ³H-лейцину і ³⁵S-метіоніну (1,0 та 0,4 мкКюрі на кг ваги відповідно). Розчин мічених амінокислот вводили внутрішньочеревинно за 2,5 год до декапітації. Після декапітації мозок тварин заморожували і на холоді виділяли такі структури: неокортекс, гіпокамп, підкірку, стовбур, мозочок, гіпоталамус. Виділені структури гомогенізували у фізіологічному розчині. Шляхом центрифугування протя-

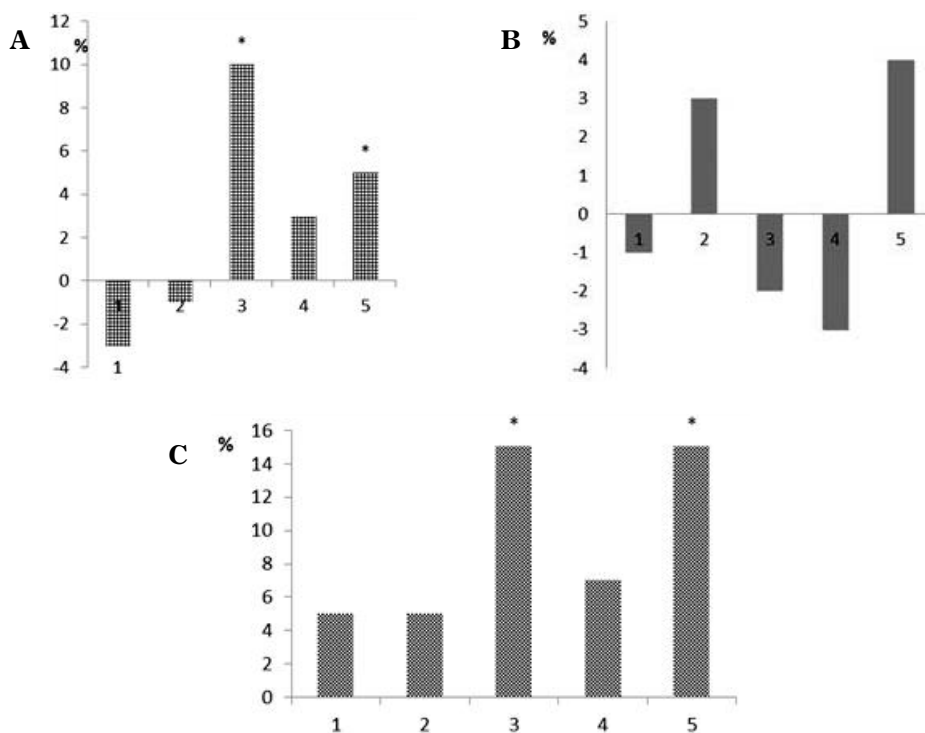


Рис. 1. Зміна вмісту білків у різних відділах мозку пренатально алкоголізованих щурів, що отримували КЕ (25 мг/кг, 25 днів), у порівнянні з контролем, * — $p \leq 0,05$, 1 — кора, 2 — гіпокамп, 3 — підкірка, 4 — стовбур, 5 — гіпоталамус; А — сумарні білки, В — водорозчинні, С — водонерозчинні.

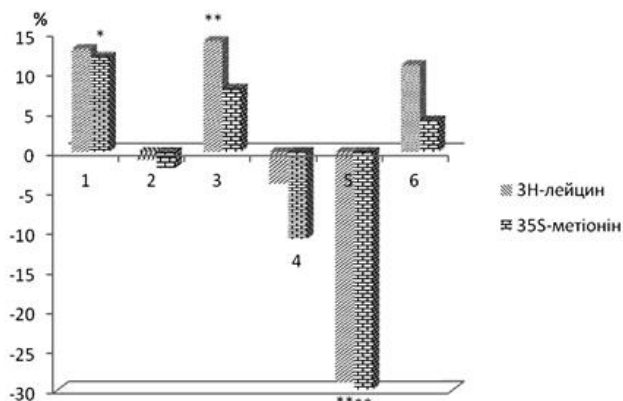


Рис. 2. Зміна питомої радіоактивності сумарних білків у відділах мозку пренатально алкоголізованих щурів, які отримували КЕ (25 мг/кг, 25 днів), у порівнянні з інтактними тваринами; * — $p \leq 0,05$; ** — $p \leq 0,01$; 1 — неокортекс, 2 — гіпокамп, 3 — мозочок, 4 — підкірка, 5 — стовбур, 6 — гіпоталамус.

гом 30 хв (1400 об/хв) із гомогенату виділяли фракції водорозчинних (ВР, надосадова рідина) і водонерозчинних (ВНР, осад) білків. Білки осаджували 10%-ною трихлороцтовою кислотою та обробляли за модифікованою схемою [5]. Відмиті від нуклеїнових кислот і ліпідів білки піддавали лужному гідролізу. Радіоактивність білків визначали методом рідинного сцинтиляційного рахунку на лічильнику «Рак-бетта» (ЛБК, Швеція). Показниками швидкості синтезу білків служили їх питома радіоактивність (розп/хв/мг білка) і відносна питома радіоактивність. Вміст білка визначали за методом Лоурі [9]. Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням критерію Ст'юдента [10]. Ймовірність відмінності (p) вважали суттєвою при $p \leq 0,05$.

Результати й обговорення. У ході дослідження вмісту сумарних, ВР і ВНР білків у структурах мозку встановлено деякі відмінності в щурів, що отримували КЕ в постнатальному періоді, в порівнянні з контрольними тваринами (рис. 1). Нами одержано ймовірне зростання вмісту сумарних білків у підкірці та гіпоталамусі. Вміст ВР білків у майже всіх досліджуваних структурах не відрізнявся від контролю. У той же час спостерігалися ймовірне збільшення вмісту ВНР білків у підкірці та гіпоталамусі й тенденція до збільшення у всіх досліджуваних відділах головного мозку.

Результати досліджень швидкості синтезу сумарних білків представлено на рис. 2. Так, по

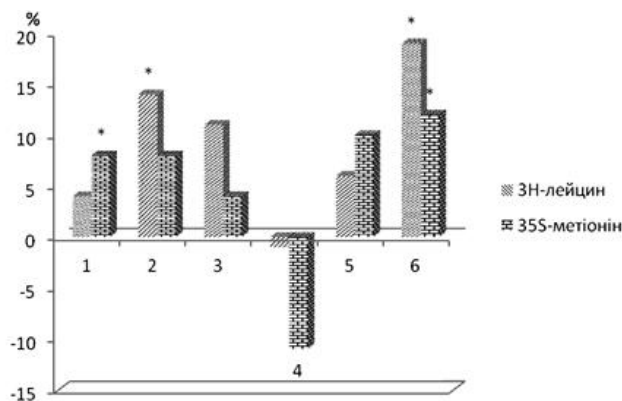


Рис. 3. Зміна питомої радіоактивності водорозчинних білків (%) у відділах мозку пренатально алкоголізованих щурів, які отримували КЕ (25 мг/кг, 25 днів), у порівнянні з інтактними тваринами; * — $p \leq 0,05$; 1 — неокортекс, 2 — гіпокамп, 3 — мозочок, 4 — підкірка, 5 — стовбур, 6 — гіпоталамус.

двох попередниках ³H-лейцину і ³⁵S-метіоніну спостерігається зниження включення амінокислот тільки у стовбурі мозку та відсутність змін у гіпокампі й підкірці. У той же час у корі мозочку та гіпоталамусі відмічено активацію включень, а саме в корі для ³⁵S-метіоніну достовірна різниця, в порівнянні з контролем, становить 16 %, а в мозочку — 17,5 %.

У тварин, окрім синтезу сумарних білків, також оцінювали швидкість синтезу їх фракцій. Під час дослідження водорозчинної фракції (рис. 3) привернула увагу стабільна тенденція до активації включень міток в усіх відділах

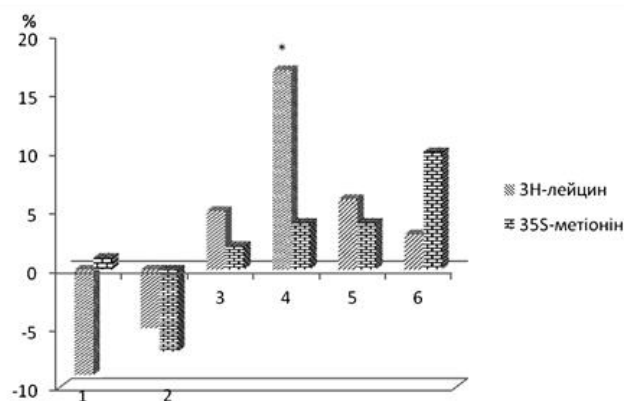


Рис. 4. Зміна питомої радіоактивності водорозчинних білків (%) у відділах мозку пренатально алкоголізованих щурів, які отримували КЕ (25 мг/кг, 25 днів), у порівнянні з інтактними тваринами; * — $p < 0,05$; 1 — неокортекс, 2 — гіпокамп, 3 — мозочок, 4 — підкірка, 5 — стовбур, 6 — гіпоталамус.

мозку з достовірним зростанням у гіпоталамусі (обидві мітки), у корі (^{35}S -метіонін) та гіпокампі (^3H -лейцин) — структурі, яка, за останніми даними, є однією з ключових ланок в організації консолідації тимчасових зв'язків [3].

Іншого характеру були зміни синтезу водонерозчинних білків (рис. 4). У піддослідних тварин, які отримували КЕ, привертає увагу суттєва активація включень ^3H -лейцину в білки підкіркового відділу. В інших структурах мозку, за виключенням неокортексу та гіпокампу, спостерігалася тенденція до збільшення включення обох міток. Таким чином, здобуті результати свідчать про суттєвий вплив КЕ, введеного в ранньому постнатальному періоді, на показники білкового обміну пренатально алкоголізованих щурів.

Висновки. Встановлено, що зміни в метаболізмі білків під впливом КЕ особливо виражені в умовах патології (пренатальної алкоголізації). Ін'єкції піддослідним тваринам, які піддавалися внутрішньоутробній дії етанолу, усувають порушення білоксинтезуючої системи в постнатальному періоді, що виражається в збільшенні вмісту білків та їх фракцій, активації білкового синтезу в більшості відділів мозку. Дія КЕ на метаболізм білків ЦНС виявляється через 2 місяці після припинення його введення. Такий «відставний ефект» може вказувати на глибокі зміни регуляторних нейрохімічних механізмів під час дії КЕ на ранніх етапах постнатального онтогенезу.

Надійшла в редакцію 15.11.2012 р.

Peculiarities of protein metabolism at administration to prenatal alcoholized rats of aza-15-crown-5 ether derivative with nootropic activity

T.L. Karaseva, J.M. Tsapenko, S.S. Basok

A.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute National Academy of Sciences of Ukraine
86, Lyustdorfska doroga, Odesa, 65080, Ukraine

Summary. It was studied the influence of crown ether (CE), possessing nootropic activity on peculiarities of protein metabolism in various structures of brain in prenatal alcoholized rats. It was found, that CE (25 mg/kg) removed the disturbances in protein synthesis in postnatal period. It is manifested in the increasing of protein content and its fractions, in activation of protein synthesis in the most regions of rats brain. CE is able to activate protein metabolism in CNS after 2 months of its administration.

Keywords: crown ether, prenatal alcoholization, brain proteins content, protein synthesis.

Перелік літератури

1. Лужников Е.А. Злоупотребление алкоголем в России и здоровье населения // Острые отравления алкоголем. Соматическая патология при хронической алкогольной интоксикации. — М.: РАОЗ, 2000. — С. 53-61.
2. Яковлева О.А. Фармакологическая коррекция последствий воздействия токсических факторов при беременности (экспериментальные исследования) // Авторефер. дис. канд. мед. наук. — С-П., 2010. — 23 с.
3. Кругликов Р.И., Майзелис М.Я. Алкоголизм и потомство (Серия «Трезвость — норма жизни»). — М.: Наука, 1987. — 128 с.
4. Alvares I., Gonzalo L.M., Llor J. Effects of chronic alcoholism on the amygdaloid complex. A study in human and rats // *Histol. and Histopathology*. — 1989. — Vol. 4. — P. 183-192.
5. Шихов С.Н. Особенности высшей нервной деятельности и деятельности белков в мозге животных, перенесших внутриутробное воздействие этанола // Авторефер. дис. канд. биол. наук. — Москва, 1989. — 22 с.
6. Карасьова Т.Л., Цапенко Ж.М., Басок С.С., Кулигина К.Ю., Лук'яненко М.Г. Вплив похідного аза-15-краун-5 із ноотропною властивістю на обмін білків у різних відділах головного мозку і крові щурів // *Ukr. Bioorg. Acta*. — 2010. — № 2. — С. 67-70.
7. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Ноотропные и нейропротекторные средства // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. — 2007. — Т. 70, № 4. — С. 44-58.
8. Островская Р.О., Гудашева Т.А., Воронина Т.А., Середенин С.Б. Оригинальный ноотропный и нейропротекторный препарат ноопепт // *Экспериментальная и клиническая фармакология* 2007. — Т. 65, № 5. — С. 66-72.
9. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurements with folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* — 1951. — V. 193. — P. 265-275.
10. Локач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / 2-е изд. перераб. и доп. — К.: Морион, 2001. — 408 с.