

ВЛИЯНИЕ ПИРАЦЕТАМА НА МЕТАБОЛИЗМ КОЛЛАГЕНА И ПОКАЗАТЕЛИ ФОСФОРНО-КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕНА У КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ТЕПЛОВОЙ НАГРУЗКЕ

Иванов Д.Г.* , Подковкин В.Г.* , Иванов Г.А.**

**Самарский государственный университет, Самара*

***Новокуйбышевская центральная городская больница, Новокуйбышевск*

В работе исследовалось влияние внутримышечного введения пирацетама на метаболизм коллагена и фосфорно-кальциевый обмен у крыс, подвергавшихся ежедневной тепловой нагрузке по 10 минут в течение 7 суток. Введение ноотропа в дозе 400 мг/кг снижало активность коры надпочечников, ингибировало катаболизм коллагена и стимулировало процессы его синтеза у крыс в условиях тепловой нагрузки, нормализовало уровень кальция в крови. Обсуждаются возможные механизмы действия пирацетама на систему нейро-эндокринной регуляции и состояние костной ткани.

Ключевые слова: пирацетам, коллаген, фосфорно-кальциевый обмен, крыса

Введение

В настоящее время считается доказанным, что перенапряжение систем, обеспечивающих адаптацию, может быть причиной развития патологии сердечно-сосудистой, дыхательной, пищеварительной, половой, иммунной систем организма. Поэтому поиск средств профилактики болезней адаптации является актуальным направлением современной медицины.

Достаточно перспективным для профилактики стрессовых расстройств является применение ноотропных препаратов, основным представителем которых является пирацетам. Применение препаратов данной группы способствует улучшению памяти, повышает обучаемость в норме и при патологии, улучшает механизмы тонического кортикального и субкортикального контроля. Кроме того, пирацетам и его аналоги оказывают защитный эффект на мозг при действии физических и химических факторов, имеют низкую токсичность [1]. Имеются сведения об анксиолитическом действии пирацетама [2].

В исследованиях, проведенных ранее, мы наблюдали повышение уровня катаболизма коллагена, сдвиги показателей фосфорно-кальциевого обмена и резорбцию трабекул губчатой кости крыс в условиях действия повышенной температуры среды [3]. При этом введение феназепама предотвращало изменения уровня маркеров метаболизма коллагена и минерального обмена обусловленные повышенной температурой [4]. Это указывало на то, что процессы деградации коллагена и изменение показателей минерального обмена в условиях тепловой нагрузки обусловлены изменением функциональной активности системы нейроэндокринной регуляции. Согласно данным, полученным зарубежными авторами, возможна успешная коррекция резорбции костной ткани при депрессии путем применения антидепрессантов [5]. Учитывая, что действие транквилизаторов и антидепрессантов реализуется через рецепторы центральной нервной системы, активность которых модулируется пирацетамом, можно предположить, возможность использования

ноотропных препаратов с целью коррекции метаболизма костной ткани при стрессе.

Поэтому целью данной работы было исследовать в эксперименте влияние пирacetамa на показатели метаболизма коллагена и фосфорно-кальциевого обмена у крыс в условиях субхронической тепловой нагрузки.

Материалы и методы

Исследование было проведено на 24 белых беспородных крысах-самцах. Согласно поставленной цели крыс делили на три группы. Первая, контрольная группа, со-

наковом рационе.

Группы животных формировались методом парных аналогов и были рандомизированы по массе и эмоциональному статусу, который определяли по общему числу дефекаций и уринаций в тесте «Открытое поле». Для того, чтобы исключить влияние процедуры тестирования на результаты, эмоциональность животных определяли за 7 суток до введения животных в эксперимент. Характеристика экспериментальных групп представлена в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика групп экспериментальных животных

Показатель	Контроль	Термическое воздействие	Термическое воздействие + пирacetам
Масса, г	209±42	189±35	223±39
Эмоциональный статус, число дефекаций и уринаций	1,5±0,6	3,0±1,1	1,3±0,2
Число крыс, шт	10	8	6

стояла из интактных животных. Во вторую группу вошли особи, подвергавшиеся ежедневно 10–12–минутному воздействию горячего воздуха с температурой 70°C в течение 7 суток по запатентованной методике [6]. Термическое воздействие во всех группах проводили в период с 13.00 до 16.00. Представители третьей группы, на фоне ежедневной тепловой нагрузки получали пирacetам. Препарат вводили внутримышечно путем инъекций в правую бедренную мышцу два раза в сутки утром с 9.00 до 10.00 и вечером с 20.00 до 21.00. Суточная доза составляла 400 мг/кг массы животного. Введение препарата начинали за 1 сутки до термического воздействия. Все экспериментальные животные содержались в клетках площадью 1813 см² по 4–5 особей в каждой при естественном световом режиме на оди-

На следующий день после истечения сроков воздействия животных выводили из эксперимента декапитацией. На анализ собирали плазму с 5% раствором этилендиаминтетраацетата натрия, сыворотку. Проводили некропсию надпочечников, печени, правой бедренной кости. Для анализа 11–оксикортикостероидов (11–ОКС) готовили гомогенаты левого надпочечника и печени с 30% этанолом. Уровень 11–ОКС в надпочечниках, печени и плазме определяли по методу [7].

Содержание адреналина определяли в гомогенатах правого надпочечника в 10% трихлоруксусной кислоте по методу [8].

Уровень свободного и белковосвязанного оксипролина в плазме определяли по реакции с п–диметиламиобензальдегидом по методу [9].

Содержание кальция в сыворотке анализировали на пламенном анализаторе жидкости ПАЖ-2 согласно руководству по эксплуатации. Уровень фосфора в сыворотке определяли по реакции с молибденовым реактивом [10]. Бедренную кость отчищали от мягких тканей, взвешивали и определяли объем по количеству вытесненной воды, как описано в [11]. По полученным результатам рассчитывали плотность кости.

Результаты представляли в виде: среднее арифметическое \pm ошибка среднего. Сравнение средних проводили с помощью критерия Стьюдента с учетом поправки Бонферрони. Отличия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Как видно из данных, представленных в таблице 2, термическое воздействие активировало функцию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС), в виде увеличения относительной массы надпочечников и повышения уровня 11-ОКС в крови и печени. При этом содержание глюкокортикоидов в надпочечниках снижалось. Вместе с этим, ежедневная тепловая нагрузка снижала уровень адреналина в надпочеч-

никах, что вероятно, обусловлено интенсивной секрецией гормона в кровяное русло.

Предварительное введение пираретама крысам предупреждало влияние повышенной температуры среды на ГГНС, судя по анализируемым показателям. Из данных, представленных в таблице 2, видно, что относительная масса надпочечников, уровень 11-ОКС в плазме и печени, были статистически значимо ниже средних значений данных показателей, наблюдавшихся в группе животных, подвергавшихся тепловой нагрузке, и не отличались от контрольных значений. В тоже время, внутримышечные инъекции пираретама не оказывали влияния на изменение уровня адреналина в надпочечниках крыс, подвергавшихся действию термического фактора.

Под действием повышенной температуры воздуха у крыс наблюдалась активация процессов катаболизма коллагена, в виде увеличения в крови свободного оксипролина — продукта деградации белка. Содержание белковосвязанного оксипролина в крови — маркера синтеза коллагена, у крыс, подвергавшихся тепловой нагрузке, не изменялось (табл. 3). Вместе с этим тепло-

Таблица 2

Влияние пираретама на показатели гормонального обмена крыс, подвергавшихся тепловой нагрузке

Показатель	Контроль	Термическое воздействие	Термическое воздействие + пираретам
Относительная масса надпочечников, %	0,0089 \pm 0,0003	0,0126 \pm 0,0005 ^a	0,0086 \pm 0,0004 ^b
11-ОКС в надпочечниках, мкг/мг	0,114 \pm 0,007	0,052 \pm 0,007 ^a	0,141 \pm 0,024
11-ОКС в плазме, мкг/мл	0,593 \pm 0,055	0,824 \pm 0,042 ^a	0,623 \pm 0,098 ^b
11-ОКС в печени, мкг/г	150,69 \pm 7,44	184,24 \pm 12,30 ^a	137,31 \pm 5,07 ^b
Уровень адреналина в надпочечниках, мкг/мг	2,16 \pm 0,12	1,24 \pm 0,07 ^a	1,20 \pm 0,05 ^a

a — отличие показателя от среднего значения в контроле статистически значимо; b — отличие показателя от среднего значения в группе крыс, подвергавшихся термической нагрузке, статистически значимо, $p < 0,05$.

Таблица 3

Влияние пираретама на показатели метаболизма коллагена, фосфорно-кальциевого обмена и плотность бедренной кости крыс, подвергавшихся тепловой нагрузке

Показатель	Контроль	Термическое воздействие	Термическое воздействие + пираретам
Свободный оксипролин в плазме, мкг/мл	1,21±0,08	1,66±0,15 ^a	1,33±0,14
Белковосвязанный оксипролин в плазме, мкг/мл	38,65±3,78	39,78±3,41	54,35±3,54 ^{a,b}
Содержание кальция, ммоль/л	1,46±0,06	1,12±0,13 ^a	1,71±0,06 ^b
Содержание фосфора, мг/л	12,16±1,78	7,97±0,13	8,23±1,00
Плотность бедренной кости, г/см ³	1,36±0,06	1,09±0,05 ^a	1,45±0,09 ^b

a — отличие показателя от среднего значения в контроле статистически значимо; b — отличие показателя от среднего значения в группе крыс, подвергавшихся термической нагрузке, статистически значимо, $p < 0,05$.

вая нагрузка снижала содержание кальция в крови животных и уменьшала плотность бедренной кости, рассчитанную как отношение массы органа к объему.

Внутримышечное введение пираретама предотвращало изменение уровня свободного оксипролина в крови под действием термического фактора, увеличивало содержание белковосвязанного оксипролина в плазме, повышало содержание кальция в сыворотке и приводило к возрастанию значений плотности бедренной кости.

Ни изолированное действие термического фактора, ни сочетанное с введением пираретама не изменяло содержания фосфора в сыворотке.

Обсуждение

Согласно данным литературы введение пираретама животным влияет на механизмы нейро-гуморальной регуляции, при этом эффект препарата реализуется через его влияние на нейро-медиаторные системы головного мозга. В. Bering, W.E. Muller [12] установили, что в концентрации 20 мМ пираретам не оказывает влияние на связывание лигандов с дофаминовым, мускариновым холинэргическим и периферическим бензодиазепиновым рецептором *in vitro*. При

этом при концентрации 20–50 мМ наблюдалось полумаксимальное связывание лигандов с бензодиазепиновыми, опиатными рецепторами, а так же рецепторами гамма-аминомасляной кислоты, серотонина. Вместе с этим для L-глутаматного рецептора концентрация пираретама, при которой наблюдалось максимальное полусвязывание составила 1 мМ. На основании этого авторы предположили, что эффект пираретама реализуется через модулирование активности возбуждающей глутаматной системы головного мозга. Кроме того, хроническое введение пираретама в дозе 500 мг/кг старым мышам в течение двух недель увеличивало плотность N-метил-D-аспаратных (NMDA) рецепторов в головном мозге животных и повышала аффинность L-глутамата к NMDA-рецепторам [13]. Вместе с этим введение пираретама оказывает модулирующее действие на опиатную систему головного мозга крыс. Согласно данным Rehani A.K. et al. [14] наблюдалось ослабление анальгизирующего эффекта морфина и бупренорфина при сочетанном введении данных препаратов с пираретамом. В работе Matton A. et al. [15] введение пираретама крысам предотвращало стресс-

индуцированное повышение уровня пролактина в крови — маркера активации опиатной системы головного мозга. При этом кривая доза-эффект имела U-образный вид, и инъекции пираретама в дозе 500 мг/г не влияли на уровень пролактина в крови при стрессе.

Внутрибрюшинное введение пираретама в дозе 300 мг/кг предотвращало повышение уровня кортикостерона в крови животных, обусловленное введением морфина, налорфина или налоксона в дозе 5 и 10 мг/кг. Хотя при введении морфина или налорфина в дозе 20 мг/кг инъекции пираретама оказывались неэффективными. Кроме того, введение ноотропа не оказывало влияние на функциональную активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы при остром стрессе, обусловленном электрическим раздражением стоп у животных [16]. В нашей работе внутримышечные инъекции пираретама предотвращали изменение относительной массы надпочечников, уровня 11-ОКС в плазме, надпочечниках и печени обусловленное ежедневным 10 минутным термическим воздействием в течение 7 суток. Вероятно, это обусловлено тем, что субхроническое введение препарата два раза в сутки приводило к устойчивой концентрации препарата в крови, что способствовало снижению активации ГГНС при стрессе посредством модулирующего действия препарата на опиатную и глутаматную медиаторные системы мозга. Способность пираретама снижать базальный уровень кортикостерона у крыс, не подвергавшихся ни каким воздействиям, показана в работе [16]. При этом, введение пираретама не оказывало влияния на изменение уровня адреналина в надпочечниках крыс при термическом воздействии, вероятно из-за низ-

кой аффинности ноотропа к адренорецепторам [12].

Согласно данным литературы метаболическая активность коллагена в костной ткани выше, чем в коже и других тканях, поэтому содержание метаболитов коллагена в виде свободного и белковосвязанного оксипролина в биологических жидкостях отражает в основном метаболизм костного коллагена [17]. То есть, изменение показателей метаболизма коллагена и фосфорно-кальциевого обмена, на наш взгляд, свидетельствует о деградации костного матрикса. Известно, что действие адреналина и кортикостероидов на костную ткань стимулирует резорбцию костной ткани, через активацию процессов роста и дифференцировки остеокластов. Эффект данных гормонов на клетки обусловлен наличием на остеокластах рецепторов глюкокортикоидов [18] и β -адренорецепторов [19]. Поэтому, можно полагать, что активация ГГНС и симпато-адреналовой системы, обусловленная действием термического фактора, запускает процессы резорбции костного матрикса через повышение уровня глюкокортикоидов и катехоламинов в крови, в результате чего активируются процессы катаболизма коллагена, обнаруживающиеся в виде повышения уровня свободного оксипролина в крови крыс и сдвигов показателей фосфорно-кальциевого обмена. При этом снижается показатель плотности бедренной кости. Введение пираретама снижает активность систем, обеспечивающих адаптацию, за счет действия на медиаторные системы мозга и обменные процессы нейронов. В результате этого содержание стрессовых гормонов в крови при термическом воздействии не достигает уровня, необходимого для запуска процессов костной резорбции, и изменений по-

казателей деградации костного матрикса в крови, характерного для термического воздействия не наблюдается.

Заключение

Ежедневное термическое воздействие в течение 10 минут на протяжении 7 суток активировало ГГНС в виде увеличения относительной массы надпочечников, снижения уровня 11-ОКС в них и повышения содержания глюкокортикоидов в крови и печени у крыс, приводило к снижению уровня адреналина в надпочечниках животных. Вместе с этим у крыс, подвергавшихся действию повышенной температуры, наблюдалось увеличение уровня свободного оксипролина в крови — показателя катаболизма коллагена первого типа, снижение уровня кальция в сыворотке и уменьшение значимой плотности бедренной кости. Ежедневное внутримышечное введение пираретама животным в дозе 400 мг/кг предотвращало активацию ГГНС, обусловленную тепловой нагрузкой, но не оказывало влияние на уровень адреналина в надпочечнике. При этом у крыс, которым вводили пираретам, не наблюдалось сдвигов показателей фосфорно-кальциевого обмена и катаболизма коллагена. Не изменялся показатель плотности бедренной кости относительно контроля. Кроме того, введение ноотропа на фоне тепловой нагрузки активировало процессы синтеза коллагена костного матрикса в виде увеличения уровня белковосвязанного оксипролина.

Список литературы

1. Губский Ю.И., Шаповалова В.А., Кутько И.И., Шаповалов В.В. Лекарственные средства в психофармакологии. К.: Здоровье, Харьков: Торсинг, 1997. — 288 с.
2. Воронина Т.А., Молодавкин Г.М., Борликова Г.Г. и др. Ноотропные и анксиолитические

свойства разных доз пираретама // Нейрофармакология. — 2000. — №2.

3. Подковкин В.Г., Иванов Д.Г. // Вестник Самарского государственного университета. — 2006. — №9. — С. 237.

4. Иванов Д.Г., Подковкин В.Г. // Вестник Уральской медицинской академической науки. — 2009. — №2. — С. 282–283.

5. Diem S.J., Blackwell T.L., Stone K.L. et al. // Arch Intern Med, — 2007. — V. 167. — P. 1240.

6. Пат. № 23227000 Способ стимуляции резорбции костной ткани у лабораторных животных / Подковкин В.Г., Иванов Д.Г. — РФ, 2006. — 4 с.

7. Подковкин В.Г. Микромодификация метода определения 11-оксикортикостероидов. — М.: ВИНТИ, 1988. — 4 с.

8. Подковкин В.Г. Микрометод определения катехоламинов в крови и тканях мелких лабораторных животных. — М.: ВИНТИ, 1988. 4 с.

9. Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — 392 с.

10. Лабораторные методы исследования в клинике. — М.: Медицина, 1987. 226 с.

11. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии. — М.: Медицина, 2002. — 240 с.

12. Bering B., Muller W.E. // Arzneimittelforschung, 1985. — V. 35. — P. 1350.

13. Cohen S.A., Muller W.E. // Pharmacology, 1993. — V. 47. — P. 217.

14. Rehani A.K., Singh N., Jindal S. // Indian Journal of Experimental Biology, 2007. — V. 45. — P. 1050.

15. Matton A., Engelborghs S., Bollengier F et al. // British Journal of Pharmacology, 1996. — V. 117. — P. 502.

16. Koranyi L., Endroczi E. // Acta Physiologica Hung, 1983. — V. 62. — P. 75–83.

17. Hirayama T. Sabokbar A., Athanasou N.A. // Journal of Endocrinology. — 2002. — № 175. — P. 155–163.

18. Togari A., Arai M. // J. Pharmacol. Sci. 2008. — № 106. — P. 542–546.

**THE PIRACETAM EFFECT ON COLLAGEN METABOLISM AND
MARKERS OF PHOSPHORUS-CALCIUM METABOLISM
IN RATS UNDER HEAT LOAD**

Ivanov D.G., Podkovkin V.G.*, Ivanov G.A.**

**Samara State University, Samara*

***Novokuibyshevsk central town hospital, Novokuibyshevsk*

In work, the piracetam intramuscular injection effect on collagen and phosphorus-calcium metabolisms in rats were being under heat load during 7 days daily was investigated. Nootropic injections in dose 400 mg/kg were decreased adrenals cortex activity, inhibited collagen catabolism and stimulated processes of it synthesis, normalized calcium blood level in rats in heat load condition. Possible mechanisms of piracetam effect on neuroendocrine regulation system and bone tissue statement were discussed.

Key words: piracetam, collagen, phosphorus-calcium metabolisms, rat