

БИОХИМИЯ

УДК 61:577.1

АКТИВНОСТЬ КАРБОКСИПЕПТИДАЗЫ E ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ДЕЙСТВИИ НООТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Л.В. Алексеева, С.С. Гамзин

Тверская государственная сельскохозяйственная академия, Тверь

Изучена активность карбоксипептидазы E в отделах мозга крыс после введения ноотропных препаратов – пирацетама, фенотропила, ноопепта – каждые 24 ч в течение 14 сут. В условиях длительного режима введения применяемых нейрометаболических стимуляторов выявлены общие тенденции изменений активности карбоксипептидазы E: наиболее высокая активность наблюдалась в гипофизе через 24 ч после последней инъекции. В порядке уменьшения влияния на активность карбоксипептидазы E в гипофизе на этом этапе наблюдений ноотропные препараты можно расположить в следующем ряду: пирацетам, фенотропил, ноопепт. Наименее выраженная активность изученного фермента отмечалась в надпочечниках.

***Ключевые слова:** карбоксипептидаза E, ноотропные препараты, длительное действие.*

Введение. Ноотропы являются нейрометаболическими стимуляторами и представляют собой лекарственные средства, предназначенные для оказания специфического воздействия на высшие функции мозга (Лапина, Золотарева, 2009; Золотарева, 2011). В комплексе их биологических функций особый интерес представляет нейропротективное влияние – повышение устойчивости нервных клеток к воздействию неблагоприятных факторов различного рода.

Протеолитические ферменты, участвующие как в образовании, так и в деградации нейропептидов, контролируют уровень опиоидных пептидов и стресс-пептидов (Fricker, 1991; Scholzen, 2007). В процессинге предшественников опиоидных пептидов и стресс-пептидов участвует карбоксипептидаза E (КПЕ) (Вернигора, 2010).

В связи с этим представляется практически значимым исследование влияния нейрометаболических стимуляторов на активность КПЕ.

Цель работы – изучить активность КПЕ в тканях крыс при длительном действии ноотропных препаратов (пирацетам, фенотропил, ноопепт).

Методика. Работа выполнена на 48 самцах белых беспородных крыс возрастом 3 мес. и массой 250-300 г. Животные содержались в

стандартных условиях вивария (температура 22-24°C, относительная влажность воздуха 40-50%) с естественным световым режимом на сбалансированной диете при свободном доступе к воде, удовлетворяющей требованиям «Руководства по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях» (Каркищенко и др., 2010).

Для изучения длительного влияния ноотропных лекарственных средств на активность КПЕ пираретам вводили внутривенно в дозе 300 мг/кг (Назарова и др., 2007), фенотропил в дозе 100 мг/кг (Белоусов, Мухина, 2005), ноопепт в дозе 10 мг/кг (Коваленко и др., 2002) каждые 24 ч в течение 14 сут. Контрольные животные получали эквивалентный объем физраствора. Крыс выводили из эксперимента через 24 и 72 ч после последней инъекции путем декапитации. Схема проведенного эксперимента показана на рис. 1.

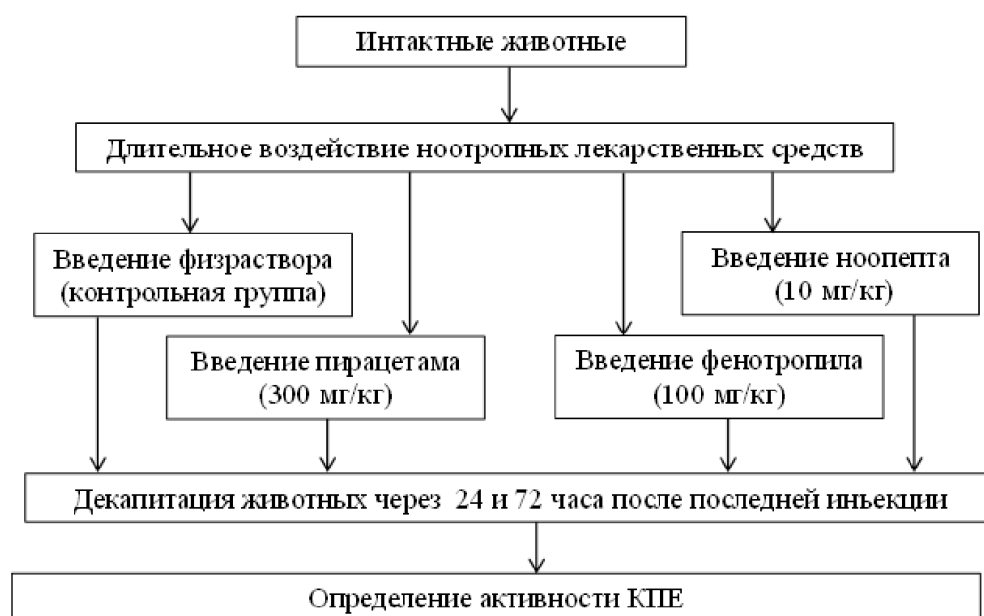


Рис. 1. Схема проведенного эксперимента

После декапитации извлекали гипофиз, четверохолмие, продолговатый мозг, гипоталамус, гиппокамп, амигдалу, стриатум и надпочечники. Ткани погружали в физиологический раствор, охлажденный до 3°C, после чего тщательно очищали их от оболочек и кровеносных сосудов. Активность КПЕ определяли методом Supattarone et al. (1984), белок – методом Лоури (1951). Активность КПЕ выражали в нмоль образовавшегося продукта реакции за 1 мин инкубации в пересчете на 1 мг белка.

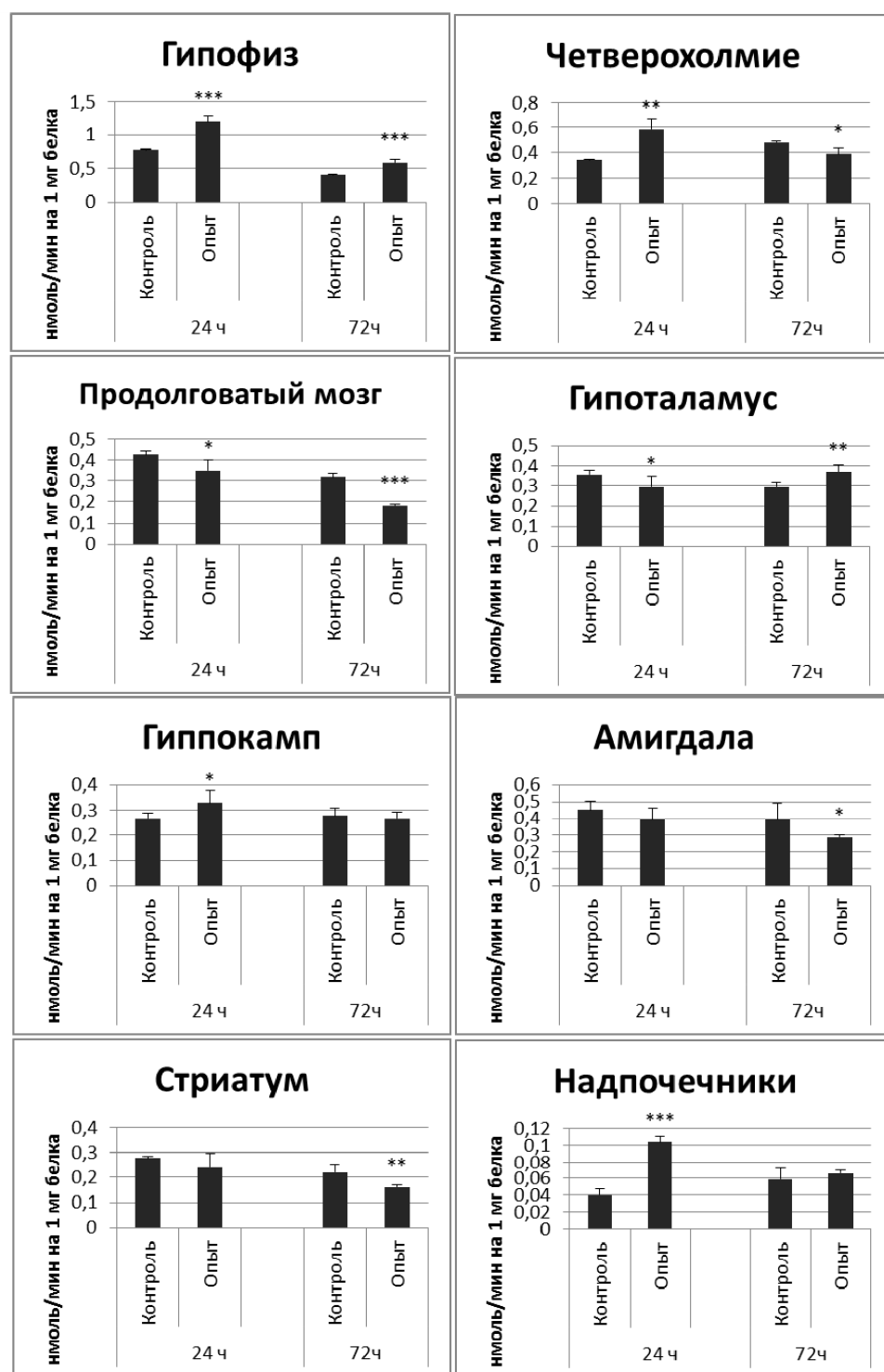
Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью следующих пакетов программ: Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft, США), Statistica 6,0 (StatSoft, Inc., США) и BioStat 2009 Professional. Достоверность различий между группами определяли с использованием параметрического t-критерия Стьюдента (при $p \leq 0,05$) для сравнения средних независимых выборок с учетом предварительной проверки выборок на нормальность распределения. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее, m – стандартная ошибка среднего. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным $p=0,05$ ($P=95\%$).

Результаты и обсуждение. Активность КПЕ в нервной ткани крыс при длительном действии пираретама представлена на рис. 2. Активность КПЕ через 24 ч после последней инъекции пираретама была выше на 56% по сравнению с контрольной группой животных.

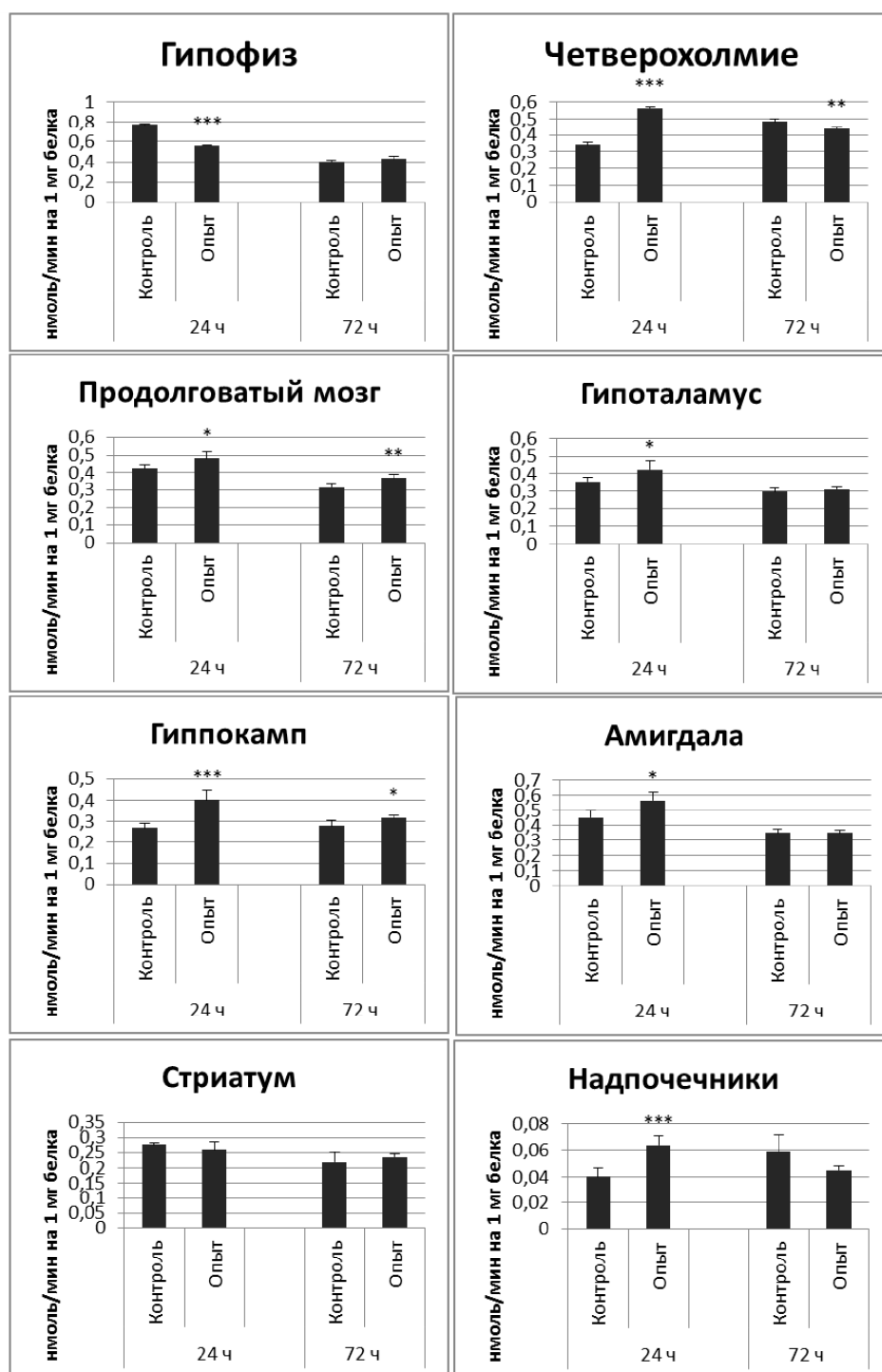
Через 72 ч после последней инъекции активность КПЕ была выше на 46% по сравнению с контрольной группой самцов. В четверохолмии активность фермента повышалась на 72% через 24 ч и снижалась на 72% через 72 ч по сравнению с контрольной группой животных. В продолговатом мозге активность КПЕ снижалась на 21% и 75% через 24 и 72 ч после последней инъекции препарата соответственно. В гипоталамусе активность КПЕ была снижена на 20% через 24 ч и повышена на 25% через 24 и 72 ч соответственно. В гиппокампе активность исследуемого фермента повышалась через 24 ч, а через 72 ч в амигдале и стриатуме снижалась на 37% и 36% соответственно. В надпочечниках обнаружено повышение активности КПЕ на 160% через 24 ч по сравнению с контрольной группой животных.

Активность КПЕ в нервной ткани крыс при длительном действии ноопепта показана на рис. 3.

Через 24 ч после последнего введения ноопепта активность КПЕ в гипофизе оказалась сниженной на 38% по сравнению с контрольной группой животных. В четверохолмии длительное введение ноопепта вызывало повышение активности КПЕ на 66% и снижение на 10% через 24 и 72 ч после последней инъекции ноопепта по сравнению с контрольной группой животных. Продолговатый мозг ответил повышением активности КПЕ на 13% и 17% через 24 и 72 ч соответственно после последней дозы ноопепта по сравнению с контрольной группой самцов.



Р и с . 2 . Активность КПЕ при действии парацетама в нервной ткани крыс (нмоль продукта, образовавшегося за 1 мин инкубации на 1 мг белка, $M \pm m$, $n=6$; * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ относительно контроля).



Р и с . 3 . Активность КПЕ при действии ноопепта в нервной ткани крыс (нмоль продукта, образовавшегося за 1 мин инкубации на 1 мг белка, $M \pm m$, $n=6$; * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ относительно контроля).

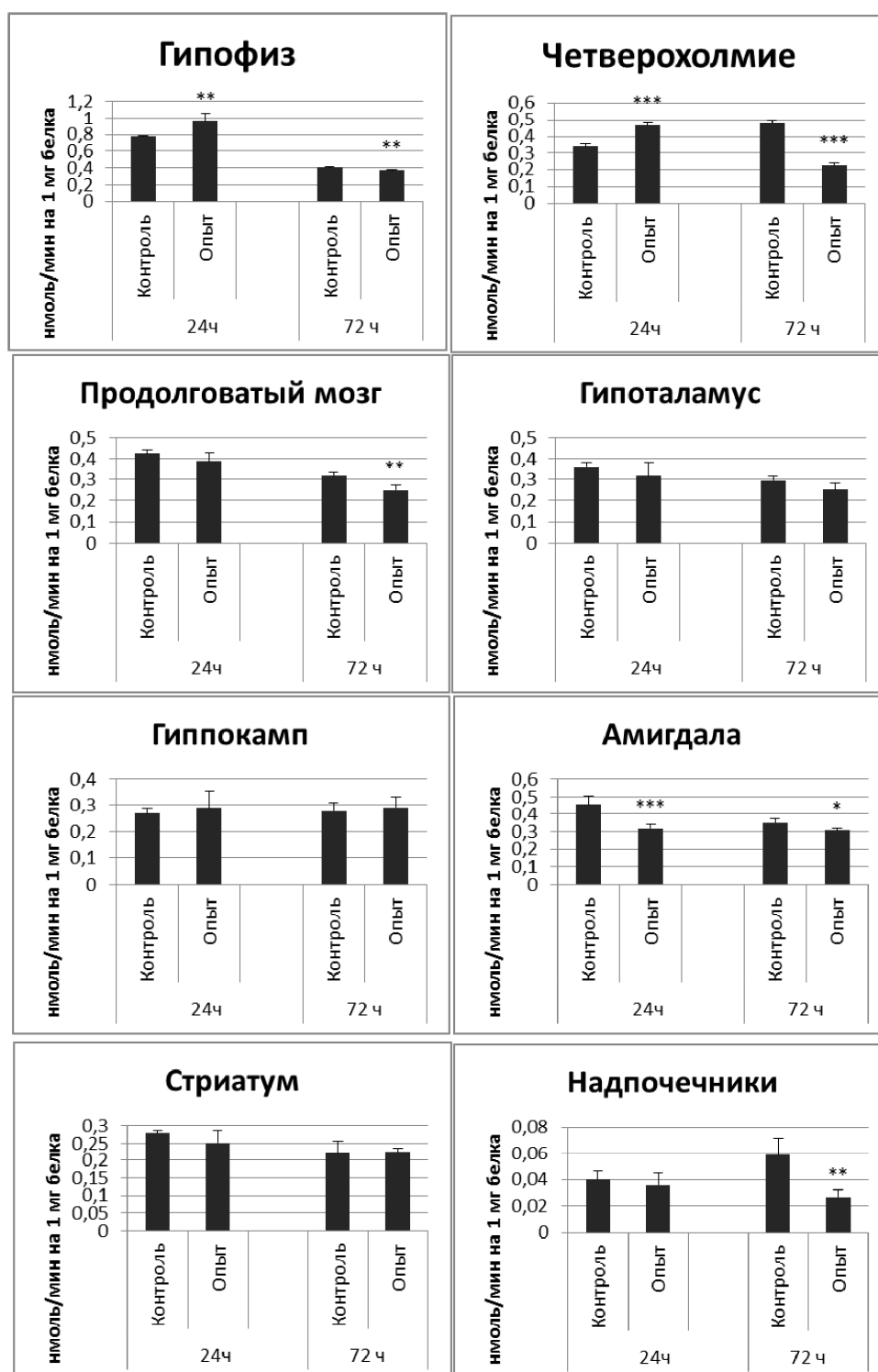


Рис. 4. Активность КПЕ при действии фенотропила в нервной ткани крыс (нмоль продукта, образовавшегося за 1 мин инкубации на 1 мг белка, $M \pm m$, $n=6$; * - $p<0,05$, ** - $p<0,01$, *** $p<0,001$ относительно контроля).

В гипоталамусе обнаружено повышение активности КПЕ на 19% через 24 ч после последнего введения ноопепта по сравнению с контролем. Активность КПЕ в гиппокампе возрастала на 49% и 14% через 24 и 72 ч соответственно после последней инъекции ноопепта по сравнению с контрольной группой животных. Через 24 ч после последнего введения ноопепта амигдала и надпочечники обнаружили повышение уровня активности КПЕ по сравнению с контрольной группой животных на 24% и 60% соответственно.

Активность КПЕ в нервной ткани крыс при длительном действии фенотропила отражает рис. 4.

Длительное введение фенотропила вызывало повышение активности КПЕ на 24% через 24 ч и снижение на 9% через 72 ч после последней инъекции по сравнению с контрольной группой животных. В четверохолмии обнаружено повышение активности КПЕ на 36% через 24 ч и снижение на 112% через 72 ч по сравнению с контролем.

Так же выявлено снижение активности КПЕ через 72 ч после последней инъекции препарата в продолговатом мозге на 27% и надпочечниках на 119% по сравнению с контролем. Активность КПЕ в амигдале снижалась по сравнению с контрольной группой животных на 44% и 14% через 24 и 72 ч соответственно.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о наличии общих тенденций изменений активности КПЕ в условиях длительного режима введения применяемых нейрометаболических стимуляторов: наименее выраженная активность изученного фермента отмечалась в надпочечниках, наиболее высокая активность наблюдалась в гипофизе. В порядке уменьшения влияния на активность КПЕ в гипофизе на этапе выведения из эксперимента крыс путем декапитации через 24 ч после последней инъекции ноотропные препараты можно расположить в следующем ряду: пирацетам, фенотропил, ноопепт.

Выводы. 1. Среди изученных отделов нервной ткани крыс наименьшая активность КПЕ выявлена в надпочечниках. 2. Изменение активности КПЕ в гипофизе в опытной группе крыс, по сравнению с контрольной, на этапе их выведения из эксперимента через 24 ч после последней инъекции путем декапитации наблюдалось в сторону увеличения при введении пирацетама и фенотропила, и в сторону уменьшения – при введении ноопепта. 3. Наиболее выраженное влияние на активность КПЕ оказал пирацетам.

Список литературы

- Белоусов Ю.Б., Мухина М.А.* 2005. Фенотропил – ноотропный препарат нового поколения // *Качественная клиническая практика.* № 3. С. 1-9.
- Вернигора А.Н.* 2010. Влияние потребления этанола на активность карбоксипептидазы Н и ангиотензинпревращающего фермента в

- некоторых отделах мозга крыс с различной устойчивостью к стрессу // Известия ПГПУ им. В.Г. Белинского. Естественные науки. № 17 (21). С. 101-103.
- Золотарева Н.В.* 2011. Регуляция каталитической активности алкогольдегидрогеназы фармакологическими препаратами Пирацетам, Зорекс и Унитиол: дис. ... канд. биол. наук. Тверь. 189 с.
- Коваленко Л.П., Смольникова Н.М., Алексеева С.В., Немова Е.П., Сорокина А.В., Мирамедова М.Г., Курапова С.П., Сидорина Е.И., Кулакова А.В., Даугель-Дауге Н.О.* 2002. Доклиническое изучение токсичности ноопепта // Экспериментальная и клиническая фармакология. Т. 65. № 1. С. 62-64.
- Латина Г.П., Золотарева Н.В.* 2009. Пирацетам – регулятор каталитической активности алкогольдегидрогеназы печени лошади // Вестн. ТвГУ. Сер.: Биология и экология. Вып.11. № 2. С. 56-62.
- Назарова Г.А., Золотов Н.Н., Крупина Н.А., Крайнева Н.А., Гарибова Т.Л., Воронина Т.А.* 2007. Изменение активности пролинспецифических пептидаз при экспериментальном моделировании ретроградной амнезии // Экспериментальная и клиническая фармакология. Т. 70. № 6. С. 6-8.
- Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях.* 2010 / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Профиль – 2С. 358 с.
- Fricker L.D.* 1991. Peptide processing exopeptidases: amino- and carboxypeptidases involved with peptide biosynthesis // Peptide biosynthesis and processing (Fricker L.D. ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida. P. 199-230.
- Lowry O.H., Rosebrought N.J., Farr A.G., Randall R.J.* 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. V. 193. № 1. P. 265-275.
- Scholzen T.E., König S., Fastrich M., Böhm M., Luger T.A.* 2007. Terminating the stress: peripheral peptidolysis of proopiomelanocortin-derived regulatory hormones by the dermal microvascular endothelial cell extracellular peptidases neprilysin and angiotensin-converting enzyme // Endocrinology. V. 148. № 6. P. 2793-2805.
- Supattapone S., Fricker L.D., Snyder S.H.* 1984. Purification and characterization of a membrane-bound enkephalin-forming carboxypeptidase, "enkephalin convertase" // Neurochem. V. 42. № 4. P. 1017-1023.

ACTIVITY OF CARBOXYPEPTIDASE E UNDER THE PROLONGED APPLICATION OF NEUROPROTECTIVE DRUGS

L.V. Alekseeva, S.S. Gamzin

Tver State Agricultural Academy, Tver

The activity of carboxypeptidase E in the brain of rats has been measured after administration of neuroprotective drugs (piracetam, phenotropil, noopept) every 24 hours for 14 days. The prolonged application of neuroprotective drugs revealed general trends in the activity of carboxypeptidase E. Its highest activity has been recorded in the pituitary gland at 24 hours after the last injection. The following sequence of drugs in relation to the less influence on the activity of carboxypeptidase E in the pituitary gland was revealed: piracetam, fenotropil, noopept. The least activity of the enzyme studied was observed in the adrenal glands.

Keywords: *carboxypeptidase E, nootropic drugs, long-term effect.*

Об авторах:

АЛЕКСЕЕВА Людмила Владимировна – доктор биологических наук, профессор кафедры биологии животных, зоотехнии и основ ветеринарии, ФГБОУ ВО «Тверская государственная сельскохозяйственная академия», 170904, г. Тверь, ул. Маршала Василевского, д. 7, e-mail: alekseeva_lud@mail.ru

ГАМЗИН Сергей Сергеевич – ассистент кафедры биологии животных, зоотехнии и основ ветеринарии, ФГБОУ ВО «Тверская государственная сельскохозяйственная академия», 170904, г. Тверь, ул. Маршала Василевского, д. 7, e-mail: s.gamzin@lenta.ru

Алексева Л.В. Активность карбоксипептидазы E при длительном действии нотропных препаратов / Л.В. Алексева, С.С. Гамзин // Вестн. ТвГУ. Сер.: Биология и экология. 2015. № 4. С. 7-15.