

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 612.821.6+591.18+574.24

ПАРАДОКСАЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ
СЕМАКСА И МОЛИБДАТ АММОНИЯ НА ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ КРЫСА.Н. Иноземцев^{1,*}, С.Б. Бокиева³, О.В. Карпухина^{1,4},
К.З. Гумаргалиева⁴, А.А. Каменский², Н.Ф. Мясоедов⁵¹Кафедра высшей нервной деятельности и ²кафедра физиологии человека и животных, биологический факультет, Московский государственный имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;³Северо-Осетинский государственный университет имени К.Л. Хетагурова,

Россия, 362025 Республика Северная Осетия — Алания, г. Владикавказ, ул. Ватутина, д. 44–46;

⁴Институт химической физики имени Н.Н. Семёнова, РАН, Россия, 119991, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4;⁵Институт молекулярной генетики, РАН, Россия, 123182, г. Москва, площадь академика И.В. Курчатова, д. 2

*e-mail: a_inozemtsev@mail.ru

Изучено сочетанное воздействие семакса с водными растворами диацетата свинца (10^{-7} М) и молибдата аммония (10^{-5} М) на формирование условной реакции двустороннего избегания у крыс в челночной камере. Установлено, что обе соли тяжёлых металлов угнетают обучение и память; большее угнетение вызывал диацетат свинца. Семакс замедлил выработку условной реакции, но противодействовал негативному влиянию на этот процесс со стороны обоих металлов. При этом влияние семакса на формирование реакции избегания в присутствии молибдата аммония, который сам по себе угнетал избегание, парадоксальным образом усилилось. При сочетанном воздействии пептида и молибдата аммония формирование условной реакции происходило значительно быстрее, чем на фоне семакса без сочетания с молибденом. В целом полученные данные свидетельствуют о противодействии семакса нейротоксическому действию солей свинца и молибдена. Поскольку основным механизмом нейротоксического эффекта тяжёлых металлов является окислительный стресс, то указанное положительное влияние семакса может, на наш взгляд, служить подтверждением наличия антиоксидантных свойств в спектре фармакологической активности пептида.

Ключевые слова: окислительный стресс, семакс, молибдат аммония, диацетат свинца, обучение, память

Эндогенные пептидные регуляторы, подобные аденокортикотропному и меланоцитстимулирующим гормонам (меланокортины), играют важную роль в регуляции функций ЦНС. В настоящее время имеется много свидетельств положительного влияния меланокортинов на выработку условных рефлексов. Однако ноотропные эффекты природных фрагментов аденокортикотропного гормона (АКТГ) кратковременны [1]. Это побудило предпринять поиск способов повышения эффективности природных меланокортинов за счёт модификации их структуры, который привел к созданию синтетических аналогов, обладающих выраженной активностью, но лишённых гормональных эффектов [2]. Среди них важное место занимает семакс — ноотропный аналог фрагмента АКТГ(4–10) пролонгированного действия, структура которого включает в себя фрагмент АКТГ(4–7) и трипептид Pro-Gly-Pro. Эксперименты на животных показали, что этот пептид, как и природные меланокортины, обладает широким спектром нейротропной активности [3]. В настоящее время он используется в клинике в качестве ноотропного и нейропротекторного препарата. Несмотря на то, что лекарственные препараты, разработанные на основе семакса, уже давно

используются в клинической практике, исследования его физиологических эффектов продолжаются. Актуальность таких исследований определяется необходимостью выяснения механизмов действия и возможностью расширения спектра клинического применения препарата.

В последнее время установлена антиоксидантная активность пептида, что существенно расширяет спектр его действия [4]. В частности, представляет большой интерес способность пептида противодействовать нейротоксическому влиянию тяжёлых металлов, основной механизм которого состоит в индукции окислительного стресса [5]. Известно, что окислительный стресс, вызываемый тяжёлыми металлами, приводит к нейродегенеративным заболеваниям, включая болезни Альцгеймера и Паркинсона [6–9]. К настоящему времени проведены отдельные работы, в которых показана перспективность использования антиоксидантов для противодействия нейротоксическим эффектам тяжёлых металлов [10–12]. В данной работе анализируется возможность применения семакса в качестве препарата с антиоксидантными свойствами для противодействия угнетению солями молибдена и свинца обучения и памяти у крыс.

Материалы и методы

Опыты поставлены на шести группах самцов белых беспородных крыс (по 20 животных в группе) в возрасте 7–8 нед. к началу опыта. Первой группе вводили семакс в дозе 0,05 мг/кг; 2-й и 3-й группам вводили водные растворы диацетата свинца (10^{-7} М) и молибдата аммония (10^{-5} М), соответственно; 4-й и 5-й группам вводили семакс в комбинации с солями свинца и молибдена, соответственно; 6-я группа служила контролем. Водные растворы солей тяжёлых металлов внутрибрюшинно по 2 мл вводили за 5 ч до опытов, семакс — через 4 ч после введения растворов солей. Контрольным животным за час до опыта вводили 2 мл дистиллированной воды.

Опыты проводили в камере, разделённой на 2 равные половины перегородкой с отверстием. У животных в течение 5 сут (по 25 предъявлений стимулов ежедневно) вырабатывали условную реакцию двустороннего избегания, служащую экспериментальной моделью обучения и памяти. Включали звуковой условный раздражитель и через 10 с подавали ток (0,5–0,7 мА) в проводку пола той половины камеры, в которой находилась крыса. Если крыса не переходила на безопасную половину камеры, то через 10 с выключали оба раздражителя; через 30 с раздражители предъявлялись повторно. Переход животного на безопасную половину камеры, во время действия раздражителей приводил к их выключению.

Исследование проводилось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986) и Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях.

Динамику обучения в группах оценивали с помощью однофакторного непараметрического дисперсионного анализа Краскела–Уоллиса; различие между группами — с помощью критерия Вилкоксона. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Анализ приведенных на рис. 1 графиков показывает, что обе соли тяжёлых металлов угнетали выработку реакции избегания. Более сильное угнетающее влияние на обучение оказала соль свинца, на фоне воздействия которой животные даже на заключительном этапе обучения в среднем получали более 20 ударов тока за опыт из 25 возможных. Применение дисперсионного анализа Краскела–Уоллиса показало, что при воздействии диацетата свинца статистически значимого увеличения количества реакций избегания, начиная со 2-го опыта, не происходило, что свидетельствует о глубоком угнетении обучения и памяти. Эти данные согласуются с ранее полученными нами [13]. Применение молибдена вызывало статистически значимое уменьшение числа реакций избегания относительно контроля только в последние трое суток опыта.

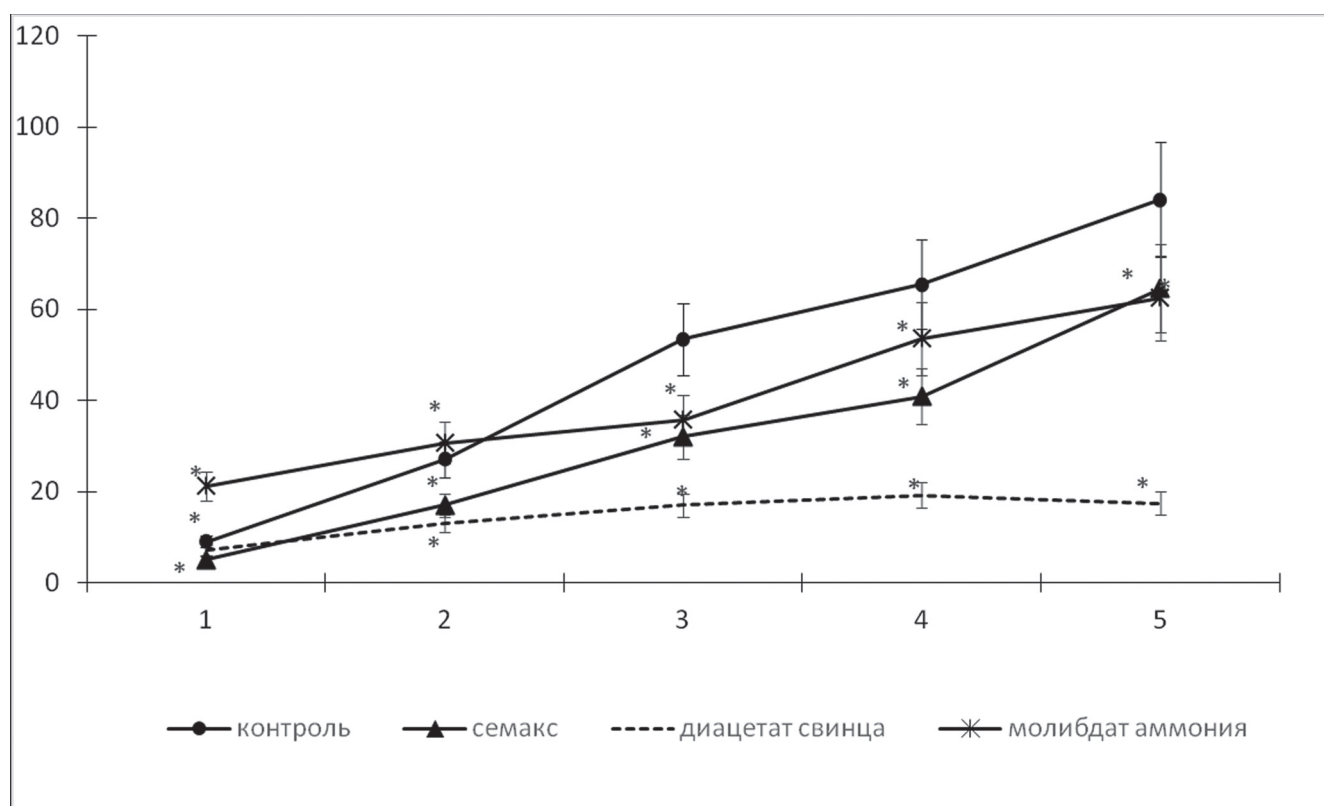


Рис. 1. Влияние семакса, диацетата свинца и молибдата аммония на динамику выработки реакции избегания. По оси абсцисс — время опытов, сут; по оси ординат — число правильных реакций в процентах относительно всех предъявлений. Данные здесь и на рис. 2 и 3 представлены в виде среднего и ошибки среднего. * — $p < 0,05$ относительно контрольных величин

Семакс замедлил выработку реакции избегания. Это согласуется с данными о том, что эффект пептида зависит от методических особенностей опытов. В частности, было показано, что семакс увеличивает число условных реакций одностороннего избегания, но уменьшает число реакций двустороннего избегания, увеличивая при этом, по сравнению с контрольными данными, число этих реакций в условиях эмоционального стресса и необходимости усвоения видоизменённого навыка после функциональных нарушений [14]. Согласно полученным в настоящем опыте результатам, семакс противодействует нейротоксическому влиянию солей обоих тяжёлых металлов на формирование реакции избегания у животных, что подтверждает отмеченную выше способность пептида оказывать положительное влияние в условиях, затрудняющих обучение. Представленные на рис. 2 результаты опытов показывают, что уровни реакций избегания при сочетанном воздействии семакса с солями как свинца, так и молибдена превышают соответствующие показатели, регистрируемые при воздействии солей без пептида. При этом противодействие со стороны пептида угнетению обучения солями свинца и молибдена проявляется в разной мере. Сочетанное воздействие семакса со свинцом ускоряло формирование реакции избегания относительно животных, которым вводили только металл, начиная с третьего дня. Нейропротективный эффект пептида при этом увеличивался по ходу

опыта. Статистически значимое превышение уровня избегания при комбинации семакса с молибденом относительно величин, наблюдаемых при воздействии соли этого металла без пептида, отмечалось на протяжении всего опыта.

Как сказано выше, и семакс, и молибден, введённые по отдельности, замедляют обучение животных. В этой связи интересно отметить, что при сочетанном воздействии пептида и молибдата аммония формирование реакции избегания происходит статистически значимо быстрее, чем на фоне семакса без сочетания с солью молибдена (рис. 3). В первый опытный день число реакций избегания при сочетанном воздействии почти в 7 раз превышало величину реакции избегания у крыс, находящихся под влиянием одного пептида. Этот результат в известной степени выглядит парадоксальным и требующим объяснения. Известно, что металл молибден входит в состав фермента ксантиноксидазы и может увеличивать активность антиокислителей [15]. Ввиду этого указанную особенность сочетанного воздействия молибдена и пептида можно объяснить увеличением антиокислительной активности последнего. В отличие от этого, сочетанное воздействие пептида с диацетатом свинца приводит к уменьшению уровня реакции избегания относительно этого показателя при воздействии только семакса. Последнее означает, что воздействие соли свинца ослабляет активность пептида. Сопоставление сочетанного воздействия

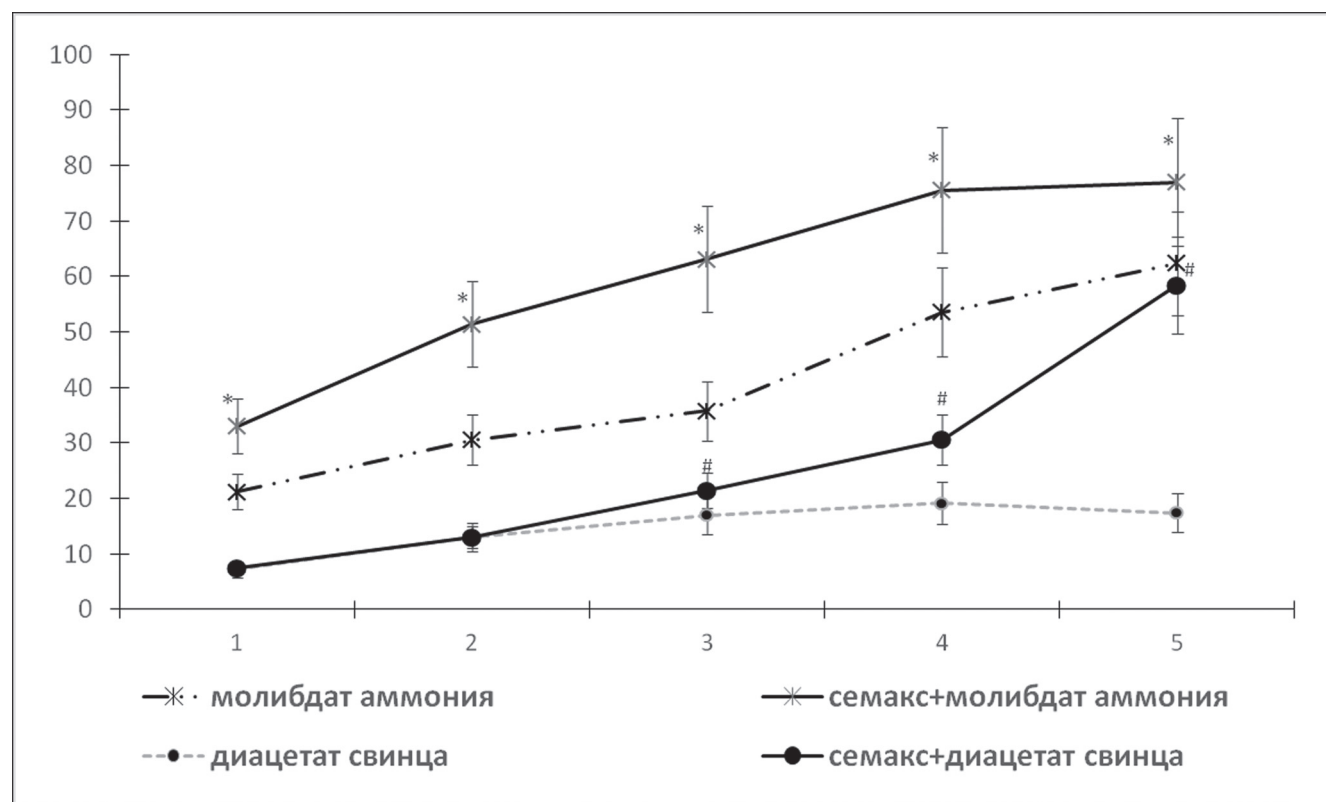


Рис. 2. Противодействие семакса отрицательному влиянию диацетата свинца и молибдата аммония на выработку реакции избегания. Обозначения осей — как на рис. 1. * — $p < 0,05$ относительно величин при отдельном введении молибдата аммония; # — $p < 0,05$ относительно величин при отдельном введении диацетата свинца

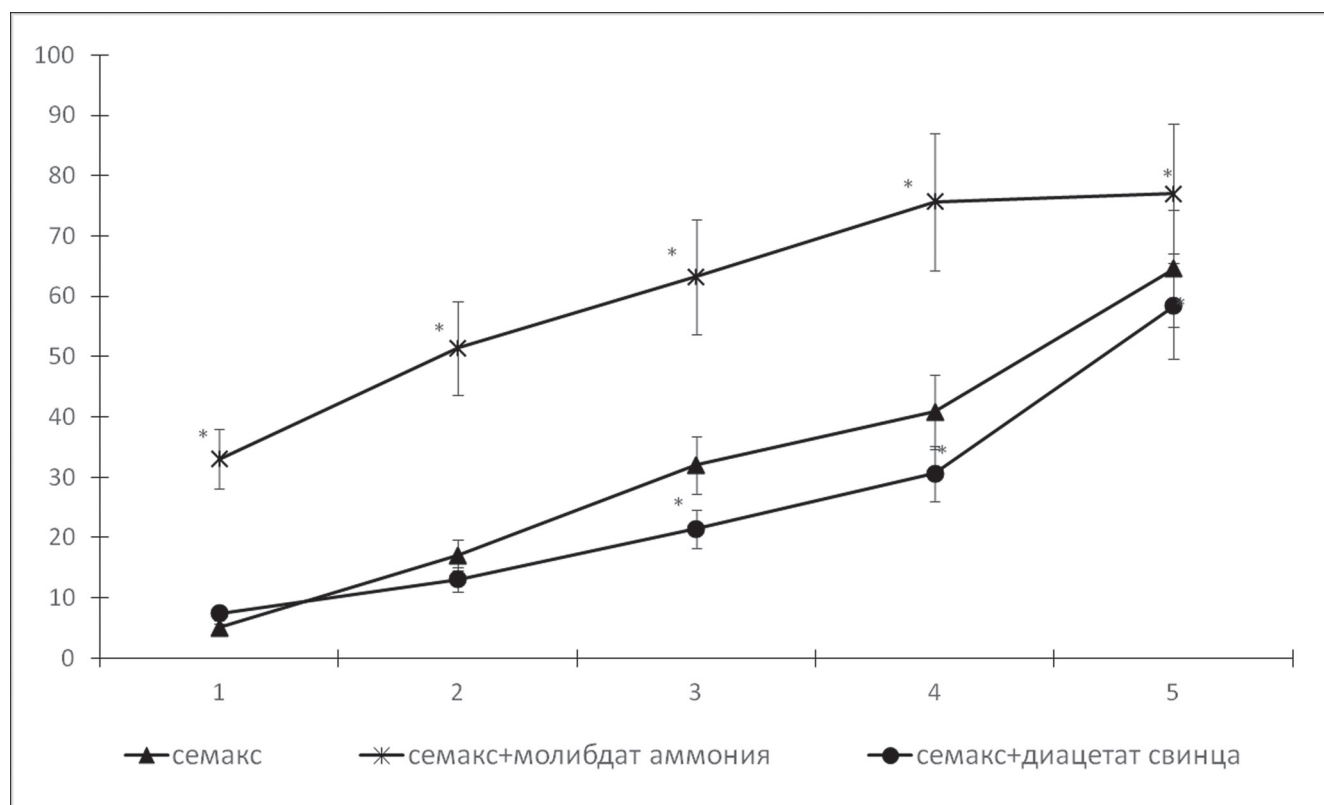


Рис. 3. Сопоставление сочетанного влияния семакса и солей металлов с влиянием одного пептида на реакции избегания. Обозначения осей — как на рис. 1. * — $p < 0,05$ относительно величин при отдельном введении семакса

на обучение семакса с диацетатом свинца и семакса с молибдатом аммония показывает, что усиление нейропротективной активности пептида избирательно, поскольку происходит только в комбинации с молибденом.

Таким образом, из полученных данных следует, что влияние семакса на формирование реакции избегания у крыс в присутствии молибдата аммония, который сам по себе угнетает обучение, парадоксальным образом усиливается. В целом полученные данные свидетельствуют о противодействии

семакса нейротоксическому действию солей свинца и молибдена. Поскольку основным механизмом нейротоксического эффекта тяжелых металлов является окислительный стресс, то положительное влияние семакса на фоне молибдата аммония и диацетата свинца может, на наш взгляд, служить подтверждением наличия антиоксидантных свойств в спектре фармакологической активности пептида.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект №15-04-05104а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ашмарин И.П., Незавибатько В.Н., Мясоедов Н.Ф., Каменский А.А., Гривенников И.А., Пономарева-Степная М.А., Андреева Н.А., Каплан А.Я., Кошелев В.Б., Рясина Т.В. Ноотропный аналог адренокортикотропина 4-10-Семакс (15-летний опыт разработки и изучения) // Журн. высш. нерв. деят. им. И.П.Павлова 1997. Т. 47 № 3. С. 420–430.
2. De Wied D. Neuropeptides in learning and memory processes // Behav. Brain Res. 1997. Vol. 83 № 1–2. P. 83–90.
3. Левицкая Н.Г., Глазова Н.Ю., Себенцова Е.А., Манченко Д.М., Виленский Д.А., Андреева Л.А., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. Исследование спектра физиологической активности аналога АКТГ(4-10) гептапептида семакс // Нейрохимия. 2008. Т. 25 № 1–2 С. 111–118.
4. Odgaeva A.V., Turovetskii V.B., Kamensky A.A. Damage to plasmatic membranes of mice peritoneal macrophages under the influence of H_2O_2 // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2007. Vol. 62. N 4. P. 156–157.
5. Jomova K., Vondrakova D., Lawson M., Valko M. Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders // Mol. Cell. Biochem. 2010. Vol. 345. N 1–2. P. 91–104.
6. Li J., Wuliji O., Wei L., Jiang Z.-G., Ghanbari H.A. Oxidative stress and neurodegenerative disorders // Int. J. Mol. Sci. 2013. Vol. 14. N 12. P. 24438–24475.
7. Chin-Chan M., Navarro-Yepes J., Quintanilla-Vega B. Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: Alzheimer and Parkinson diseases // Front. Cell. Neurosci. 2015. Vol. 9. doi: <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00124>.
8. Phaniendra A., Jestadi D.B., Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases // Indian J. Clin. Biochem. 2015. Vol. 30. N 1. P. 11–26.
9. Ortiz G.G., Pacheco-Moisés F.P., Mireles-Ramírez M.A., Flores-Alvarado L.J., González-Usigli H., Sánchez-López A.L., Sánchez-Romero L., Velázquez-Brizuela I.E., González-Renovato E.D., Torres-Sánchez E.D. Oxidative stress and Parkinson's Disease: Effects on environmental toxicology // Free Radicals and Diseases / Ed. R. Ahmad. InTechOpen, 2016. P. 182–209.

10. *Flora S.J.S.* Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2009. Vol. 2. N 4. P. 191–206.

11. *Velaga M.K., Basuri C.K., Robinson Taylor K.S., Yal-lapragada P.R., Rajanna S., Rajanna B.* Ameliorative effects of *Bacopa monniera* on lead-induced oxidative stress in different regions of rat brain // *Drug Chem. Toxicol.* 2014. Vol. 37. N 3. P. 357–364.

12. *Kulikova O.I., Fedorova T.N., Stvolinsky S.L., Orlova V.S., Inozemtsev A.N.* Carnosine prevents the development of oxidative stress under the conditions of toxic action of cadmium // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2016. Vol. 71. N 4. P. 240–244.

13. *Inozemtsev A.N., Bokieva S.B., Karpukhina O.V., Gumargalieva K.Z.* Effects of combined treatment with heavy metals and piracetam on learning and memory in rats // *Dokl. Biol. Sci.* 2008. Vol. 442. N 1. P. 301–304.

14. *Иноземцев А.Н., Аганитова А.Е., Бокеева С.Б., Глазова Н.Ю., Левицкая Н.Г., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф.* Разнонаправленное влияние семакса на формирование и функциональные нарушения реакции избегания у крыс // *Журн. высш. нерв. деят. им. И.П. Павлова.* 2013. Т. 63. № 6. С. 711–718.

15. *Hille R.* Molybdenum-containing hydroxylases // *Arch. Biochem. Biophys.* 2005. Vol. 433. N 1. P. 107–116.

Поступила в редакцию 06.04.2017

Принята в печать 15.06.2017

PHYSIOLOGY

THE PARADOXICAL INFLUENCE OF SEMAX AND AMMONIUM MOLYBDATE COEXPOSURE ON LEARNING AND MEMORY IN RATS

A.N. Inozemtsev^{1,}, S.B. Bokieva³, O.V. Karpukhina^{1,4}, K.Z. Gumargalieva⁴, A.A. Kamenskii², N.F. Myasoedov⁵*

¹Department of Higher Nervous Activity and ²Department of Human and Animal Physiology, School of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;

³North Ossetian State University, Vatutin str. 44–46, Vladikavkaz, 362025, Russia;

⁴Semenov Institute of Chemical Physics RAS, Kosygina str. 4, Moscow, 119991, Russia;

⁵Institute of Molecular Genetics, RAS, Kurchatov sq. 2, Moscow, 123182, Russia

*e-mail: a_inozemtsev@mail.ru

Combined effects of Semax with an aqueous solutions of lead diacetate (10^{-7} M) and ammonium molybdate (10^{-5} M) on the two-way active avoidance learning in rats in the Shuttle box have been studied. It was established that both salts of heavy metals depressed learning and memory; greater inhibition was caused by the lead diacetate. Semax inhibited the avoidance learning but counteracted the negative impact on this process on the part of both metals. Additionally, the influence of Semax on avoidance learning paradoxically increased in the presence of ammonium molybdate, which inhibited avoidance responses when injected alone. Avoidance learning in rats coexposed to the peptide and ammonium molybdate was much faster than in rats injected by Semax. Overall, the data indicate that Semax counteracts the neurotoxic effect of the salts of lead and molybdenum. As the main mechanism of the neurotoxic impact of heavy metals is oxidative stress, the positive effect of Semax could, in our opinion, serve as confirmation of the presence of antioxidant properties in the spectrum of the peptide pharmacological activity.

Keywords: oxidative stress, Semax, ammonium molybdate, lead diacetate, learning, memory

Сведения об авторах

Иноземцев Анатолий Николаевич — докт. биол. наук, руководитель лаборатории эволюции механизмов памяти, вед. науч. сотр. кафедры ВНД биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-50-01; e-mail: a_inozemtsev@mail.ru

Бокеева Светлана Батырбековна — канд. биол. наук, доц., зав. кафедрой анатомии и физиологии человека и животных биолого-технологического факультета Северо-Осетинского государственного университета им. К.Л. Хетагурова. Тел.: 8-867-253-12-57; e-mail: bokievasb@rambler.ru

Карпукхина Ольга Вячеславовна — канд. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры ВНД биологического факультета МГУ; ст. науч. сотр. лаборатории стабильности и устойчивости органических веществ и материалов Отдела динамики химических и биологических процессов Института химической физики им. Н.Н. Семёнова. Тел.: 8-495-939-50-01; e-mail: karpukhina.msu@yandex.ru

Гумаргалиева Клара Зенноновна — докт. хим. наук, проф., зав. лабораторией стабильности и устойчивости органических веществ и материалов Отдела динамики химических и биологических процессов Института химической физики им. Н.Н. Семёнова. Тел.: 8-495-939-72-76; e-mail: guklara@yandex.ru

Каменский Андрей Александрович — докт. биол. наук, проф., зав. кафедрой физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-33-55; e-mail: kamensky_msu@mail.ru

Мясоедов Николай Фёдорович — акад. РАН, докт. хим. наук, проф. Института молекулярной генетики РАН. Тел.: 8-499-196-00-01; e-mail: nfm@img.ras.ru