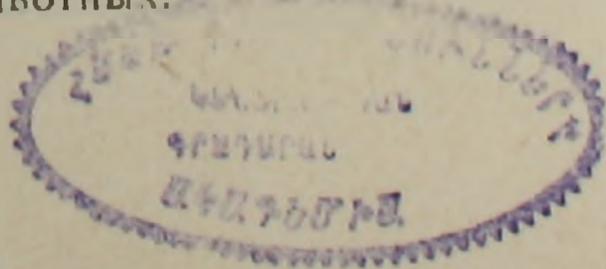


Г. С. ХАЧАТРЯН, Ц. М. СУДЖЯН

## ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ КАТЕХОЛАМИНОВ В МОЗГЕ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИПРАЗИДА И ТРАНСАМИНА

Изучено влияние ингибиторов моноаминоксидаз (ИМАО) ипразида и трансаминна на динамику изменения содержания катехоламинов—норадреналина и адреналина. Полученные нами данные относительно понижения норадреналина и адреналина в начальный период после введения ипразида (7—30 мин) сопоставимы с нашими предыдущими исследованиями, выявившими преимущественное влияние ипразида на биосинтез гликогена.

Наши предыдущие исследования [7, 8] показали, что ингибиторы моноаминоксидазы (ИМАО)—ипразид вызывает повышение содержания общего, свободного и связанного с белками гликогена и активности зависимой от глюкозо-6-фосфата формы УДФ-глюкоза- $\alpha$ -глюканглюкозилтрансферазы (D-формы), а трансамин не вызывает заметных сдвигов в содержании общего гликогена и его различных форм и не влияет на активность УДФ-глюкоза- $\alpha$ -глюканглюкозилтрансферазы. Установленное нами влияние ИМАО-ипразида на обмен гликогена мозга не может быть объяснено лишь его влиянием на активность моноаминоксидазы (МАО). Известно, что ИМАО тормозят окислительное дезаминирование аминов—норадреналина, адреналина, серотонина и приводит к их накоплению в организме [17, 25], в том числе и в мозге [22]. Указанные амины, проявляя свое действие через аденилциклазу [20], оказывают преимущественно катаболическое воздействие на обмен гликогена. На основании полученных нами данных можно было допустить два возможных механизма влияния ипразида на обмен гликогена мозга: во-первых, оно может быть обусловлено сдвигами в содержании биогенных аминов; во-вторых, ипразид мог бы оказать непосредственное, специфическое воздействие на биосинтез гликогена. В этом аспекте интересно было бы проследить за количественными сдвигами в содержании катехоламинов (норадреналина, адреналина) мозга в динамике, т. е. с момента введения изучаемых нейротропных веществ до периода полного проявления тормозящего влияния их на активность МАО. В доступной нам литературе мы не встретили подобных исследований. Лишь в работе Шмидта и сотр. [21] показано максимальное торможение МАО под влиянием ипразида в интервале времени от 3 до 16 час. после его введения. Поэтому нами были изучены сдвиги в содержании норадреналина и адреналина в мозге под влиянием ипразида и трансаминна в различные промежутки времени после их введения в организм животных.



*Материал и методика.* Опыты были поставлены на крысах-самцах весом 120—160 г. Ипразид и трансамин вводили в физиологическом растворе внутривенно. Контролем служили интактные животные. Животных подвергали замораживанию в жидком азоте через 7, 15, 30 мин, 1, 3, 16 час после введения ипразида в дозе 10 мг/100 г веса животного и 15, 30 мин, 2 и 4 час. после введения трансамин в дозе 1 мг/100 г веса животного. Экстракцию норадреналина и адреналина из мозговой ткани производили в холодильной комнате перхлорной кислотой [4, 11]. Дальнейшее определение проводили по методике Крута [15]. В качестве адсорбента использовали специально обработанную окись алюминия. В холодильной комнате адсорбированные на окиси алюминия катехоламины количественно переносили в хроматографическую колонку размером 12×100 мм. Воде давали стечь, промывали двумя порциями бидистиллированной воды. При исследовании использовали воду, бидистиллированную в стеклянной системе. Для вытеснения воды из окиси алюминия добавляли 3 мл 0,2 N уксусной кислоты. Катехоламины элюировали двумя порциями 0,2 N уксусной кислоты. Для полного удаления случайно оставленных гранул окиси алюминия элюат центрифугировали. Для определения общего содержания норадреналина и адреналина реакцию проводили при pH 6,5, а для определения только адреналина—при pH 3,5. Вместо йодного раствора в качестве окислителя применяли феррицианид калия, так как наилучшие результаты получают при работе с феррицианидом калия, приготовляемым каждый раз заново. Для большей стабилизации флуоресценции все пробы в периоде измерения охлаждали на льду. Ставили также контроль на реактивы, кроме элюата или стандарта. Параллельно ставили также реакцию со стандартами норадреналина и адреналина. Количество норадреналина и адреналина выражали в мкг на 1 г свежей мозговой ткани. Флуорометрическое определение катехоламинов производили на спектрофотофлуорометре, сконструированном в нашей лаборатории. Пик возбуждения норадреналина на нашем приборе соответствовал 395 мμ, адреналина—410 мμ, пик флуоресценции норадреналина—505 мμ, а адреналина—520 мμ [9].

*Результаты и обсуждение.* Содержание норадреналина (табл. 1) в мозге у контрольной группы крыс составляет  $0,42 \pm 0,0065$  мкг/г свежей ткани. Полученные нами результаты об уровне содержания норадреналина в мозге контрольных крыс в среднем совпадают с данными литературы [5]. Через 7 мин после введения ипразида содержание норадреналина в мозге понижается. Через 15 и 30 мин после введения его также отмечается понижение. Однако через 15 мин оно выражено в несколько меньшей степени, чем через 7 мин, а через 30—несколько меньше, чем через 15 мин. Таким образом, в первые 30 мин после введения ипразида мы наблюдали понижение содержания норадреналина в мозге крыс. Через 1 и 3 час. содержание норадреналина приближается к уровню его у контрольных крыс, составляя 0,39 мкг/г свежей ткани.

В отношении влияния ипразида на содержание норадреналина в мозге животных через 16 час. после его введения, когда наблюдается максимальное торможение активности МАО, в литературе имеются разноречивые данные. После введения ИМАО многие авторы отмечают повышение содержания катехоламинов в мозге [17, 22]. Наряду с этим, по данным других авторов [3], ипразид, повышая содержание норадреналина в мозге кроликов, не изменяет его в мозге собак. По данным Броди [13], в опытах с введением другого ИМАО-катрона содержание норадреналина остается неизменным в мозге кошек и собак. Недавние исследования Шора [27] выявили, что катрон не оказывает прямого тормозящего действия на способность резерпина вытеснить норадреналин из ре-

зервных форм, как полагали ранее некоторые исследователи. Значительный интерес представляют данные Де Робертиса об увеличении количества и размеров гранул (пузырьков), содержащих резервные формы биогенных аминов под влиянием ипразида [16]. В наших опытах через 16 час. после введения ипразида мы наблюдали повышение содержания норадреналина в мозге крыс.

Результаты наших опытов свидетельствуют о неодинаковом действии ипразида в различные интервалы времени на содержание норадреналина в мозге крыс.

Интерес представляло изучение содержания адреналина в мозге после введения ипразида при тех же условиях опыта. Ряд данных литературы указывает на наличие адреналина в мозге животных и человека [5, 6, 9], хотя оно оспаривается многими исследователями [12, 28, 30]. По данным Матлиной и Давыдовой [5], адреналин всегда обнаруживается в мозге и в гипоталамусе крыс, составляя в цельном мозге 0,04 мкг/г ткани. По средним данным наших 20 опытов, у контрольной группы крыс содержание его (табл. 2) составляло  $0,067 \pm 0,002$  мкг/г свежей ткани. Через 15 мин после введения ипразида этот показатель понизился, составив  $0,047 \pm 0,003$  мкг/г ткани. Через 30 мин количество адреналина достигло уровня контрольных опытов. Следовательно, на 30 мин при пониженном содержании норадреналина в мозге крыс после введения ипразида количество адреналина уже неотличимо от контрольного фона, т. е. отсутствует параллелизм между сдвигами в содержании норадреналина и адреналина. Через 1 час после введения ипразида содержание адреналина несколько повышается и становится значимым через 3 час. Количество адреналина остается повышенным и через 16 час. после введения ипразида.

Таким образом, при сравнении полученных данных относительно влияния ипразида на содержание адреналина с результатами опытов, касающихся норадреналина, нетрудно заметить, что направленность этого влияния является сходной. Однако при более детальном изучении в различные интервалы времени выявляется и некоторое отличие.

В последующем мы изучали влияние трансаминна на содержание норадреналина и адреналина (табл. 3). Через 15 мин после его введения количество норадреналина, как и под влиянием ипразида, понижалось, составляя  $0,23 \pm 0,024$  мкг/г по сравнению с  $0,42 \pm 0,0065$  мкг/г в контрольных опытах. Известно, что в норадренэргических нервных окончаниях мозговой и других тканей имеется механизм резервирования норадреналина, благодаря которому освободившийся норадреналин обратно связывается с нервными окончаниями. При этом обменивается он лишь в незначительном количестве [19]. Нарушение этого процесса сопряжено с понижением количества норадреналина в тканях, так как весь несвязавшийся норадреналин может превращаться ферментативными системами MAO или катехол-о-метилтрансферазы (КОМТ). В наших опытах понижение содержания норадреналина в мозге через 15 мин после введения ипразида и трансаминна может быть обусловлено их влиянием на механизм обратного связывания освободившегося норадреналина. Через

Таблица 1

Содержание норадреналина в мозге белых крыс в мкг/г свежей ткани при введении ипразида

	Контроль	И п р а з и д					
		7 мин	15 мин	30 мин	1 час	3 час.	16 час.
$\frac{M \pm m}{n}$ P	$0,42 \pm 0,0065$ (21) —	$0,25 \pm 0,018$ (6) <0,01	$0,23 \pm 0,022$ (6) <0,01	$0,32 \pm 0,013$ (6) <0,01	$0,031 \pm 0,008$ (5) <0,05 >0,02	$0,39 \pm 0,017$ (6) <0,2	$0,51 \pm 0,018$ (12) <0,01

Таблица 2

Содержание адреналина в мозге белых крыс в мкг/г свежей ткани при введении ипразида

	Контроль	И п р а з и д				
		15 мин	30 мин	1 час	3 час.	16 час.
$\frac{M \pm m}{n}$ P	$0,067 \pm 0,002$ (20) —	$0,047 \pm 0,003$ (6) <0,01	$0,068 \pm 0,0017$ (6) >0,5	$0,094 \pm 0,0087$ (5) >0,02	$0,104 \pm 0,0012$ (5) <0,001	$0,109 \pm 0,0076$ (10) <0,01

30 мин после введения трансamina содержание норадреналина достигает контрольного уровня. В условиях максимального торможения активности MAO через 2 час. после введения трансamina содержание норадреналина имеет лишь некоторую тенденцию к повышению и остается неизменным по сравнению с контрольными опытами через 4 час. после его введения. Таким образом, в интервале от 2-х до 4-х час., когда в мозге активность MAO максимально ингибирована под влиянием трансamina, содержание норадреналина не подвергается особым изменениям. Поскольку применяемые нами ИMAO могут ингибировать активность MAO, то можно предположить, что в превращении и биологической инактивации несвязавшегося норадреналина в мозге, помимо MAO, принимает участие КОMT.

За последние годы появились работы, которые свидетельствуют о важном значении 3-оксиметилирования в превращении катехоламинов в мозге. В мозге обнаружен кофермент 3-оксиметилирования S-аденозилметнионин, а также фермент, принимающий участие в образовании S-аденозилметнионина из аденозинтрифосфата и метнионина [16]. Из гипоталамуса различных животных был выделен норметанефрин [18]. Имеются данные о переключении на путь 0-метилирования катехоламинов в организме при воздействии ИMAO [26]. Особый интерес представляют данные, которые выявили наличие 3-оксиметилированного продукта превращения норадреналина—норметанефрина—в экстрактах мозга, обработанного ипразидом [10]. В свете вышеприведенных данных представляет интерес, в условиях наших опытов, динамическое изучение изменения активности КОMT, что является задачей наших дальнейших исследований.

В последующем мы изучали воздействие трансamina на содержание адреналина (табл. 4). Через 15 мин после его введения в мозге повышается количество адреналина и выявляется неодинаковое проявление действия трансamina на содержание норадреналина и адреналина в этом интервале времени. Через 30 мин содержание адреналина понижается, при отсутствии сдвигов в содержании норадреналина. Через 2 час. после введения трансamina содержание адреналина значительно повышается и приближается к контрольному фону через 4 час. после его введения. Следовательно, в период максимального торможения активности MAO в мозге в основном повышено количество адреналина лишь при некотором увеличении содержания норадреналина.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о динамических сдвигах в содержании норадреналина и адреналина при воздействии ипразидом и трансaminом. Однако только повышение содержания норадреналина и адреналина в мозге под действием ипразида через 16 час. и увеличение количества адреналина под влиянием трансamina через 2 час. после их введения могут быть объяснены в основном их тормозящим влиянием на активность MAO. Понижающее влияние ипразида и трансamina на содержание норадреналина и адреналина в начальный период их воздействия, возможно, обусловлено влиянием ИMAO на тканевые рецепторы катехоламинов. В этом аспекте пред-

Таблица 3

Содержание норадреналина в мозге белых крыс в мкг/г свежей ткани при введении трансамина

	Контроль	Т р а н с а м и н			
		15 мин	30 мин	2 час.	4 час.
$M \pm m$	$0,42 \pm 0,0065$	$0,23 \pm 0,024$	$0,41 \pm 0,012$	$0,47 \pm 0,027$	$0,405 \pm 0,00562$
$\frac{n}{P}$	(21) —	(5) <0,01	(5) <0,5	(5) <0,2	(6) >0,1

Таблица 4

Содержание адреналина в мозге белых крыс в мкг/г свежей ткани при введении трансамина

	Контроль	Т р а н с а м и н			
		15 мин	30 мин	2 час.	4 час.
$M \pm m$	$0,067 \pm 0,002$	$0,091 \pm 0,0046$	$0,04 \pm 0,00547$	$0,128 \pm 0,0124$	$0,076 \pm 0,0049$
$\frac{n}{P}$	(20) —	(5) <0,02	(5) <0,01	(5) <0,01	(6) >0,1

ставляют интерес исследования, которые выявили возбуждающее действие ИМАО на центральную нервную систему. Они могут в определенных условиях снижать артериальное давление [1]. Исследованиями других авторов установлено [14], что ИМАО обладают гипогликемизирующим действием и повышают толерантность к глюкозе [23, 24]. Можно предположить, что в основе этих эффектов лежит влияние ИМАО на еще мало изученные функции МАО [2].

Полученные нами данные в отношении понижения содержания норадреналина и адреналина в мозге в начальный период воздействия ИМАО (7—30 мин) представляют особый интерес. Благодаря изменениям концентрации катехоламинов создается возможность для регуляции биоэнергетических и биосинтетических процессов, в том числе и биосинтеза гликогена. Наличие понижающего действия трансамина на содержание катехоламинов при отсутствии его влияния на активность обеих форм гликогенсинтетазы мозга позволяет предположить, что ипразид может оказать специфическое действие на гликогенсинтетазу мозга. В пользу этого предположения говорит и тот факт, что введение изониазида—продукта окислительного распада ипразида—повышает активность обеих форм гликогенсинтетазы как в опытах *in vitro*, так и *in vivo* [8]. Однако недавние исследования [29] по изучению механизма действия гидразинных ингибиторов на активность МАО позволили авторам предположить, что ипразид проявляет свое тормозящее действие после гидролитического распада с освобождением изопрропилгидразина. Таким образом, для окончательного решения затронутого вопроса необходимы

дальнейшие сочетанные исследования обмена катехоламинов и гликогена.

Ереванский медицинский институт,  
лаборатория биосинтетических реакций

Поступило 16.11.1973 г.

Գ. Ս. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ, Յ. Մ. ՍՈՒՋՅԱՆ

ԿԱՏԵԿԵՈՒՄԻՆՆԵՐԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅԱՆ ԳԻՆԱՄԻԿԱՆ ՈՒՂԵՂՈՒՄ ԻՊՐԱՋԻԳԻ ԵՎ ՏՐԱՆՍԱՄԻՆԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅԱՆ ԳԵՊՔՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Մոնոամինօքսիդազայի ինհիբիտոր իպրադիլի ներմուծումը փորձից 7 րոպե առաջ առաջացնում է նորադրենալինի քանակի իջեցում սպիտակ առնետների ուղեղում, որը տևում է 15—30 րոպե: Մեկից 3 ժամ հետո նորադրենալինի քանակը մոտենում է կոնտրոլ փորձերի մակարդակին, իսկ իպրադիլի ներմուծումից 16 ժամ հետո՝ ավելանում է: Ադրենալինի քանակական տեղաշարժերը ուղեղում, հետադոտոլիան նույն ինտերվալներում, իրենց բրնուլիթով նման են նորադրենալինի քանակական փոփոխությունների դինամիկային:

Տրանսամինի (նույնպես ՄԱՕ-ի ինհիբիտոր) ներմուծումը առաջացնում է նորադրենալինի և ադրենալինի քանակների իջեցումը՝ ուղեղում 30 րոպե հետո և միայն 2 ժամ հետո հետադոտոլոլ նյութերի քանակը հասնում է նորմալի սահմաններին: Այս հետադոտոլիան, ինչպես նաև մեր նախորդ աշխատանքների արդյունքները ցույց են տալիս, որ իպրադիլի ազդեցությունը ուղեղում հիմնականում ի հայտ է գալիս զլիկոպենի սինթեզի նկատմամբ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Высоцкая Н. Б., Матлина Э. Ш., Меньшиков В. В., Халимова К. М. Биогенные амины. М., 162, 1967.
2. Горкин В. З. Биогенные амины, М., 146, 1967.
3. Коцера В. И., Готовцева О. П. Укр. биохим. журнал, 39, 125, 1967.
4. Матлина Э. Ш., Рахманова Т. Б. Методы исследования некоторых систем гуморальной регуляции. М., 136, 1967.
5. Матлина Э. Ш., Давыдова И. Б. Биогенные амины. М., 13, 1967.
6. Степанян Л. А. Содержание катехоламинов и активность моноаминоксидазы в различных отделах головного мозга при естественных физиологических воздействиях. Канд. диссертация, Ереван, 1972.
7. Хачатрян Г. С., Суджян Ц. М. Вопр. мед. химии, 17, 3, 1972.
8. Хачатрян Г. С., Суджян Ц. М. Биологический журнал Армении, 25, 8, 4, 1972.
9. Хачатрян Г. С., Степанян Л. А. Мат-лы 49-ой научн. сессии Ермединститута, 141, 1971.
10. Anjelacos E. T., Fuxe K. Acta physiol. Scand., 59, 1—2, 184, 1963.
11. Bertler A., Carlsson A., Rosengren E. Kgl. fysiogr. Sälls. kap. Lund förhandl. 28, 21, 121, 1958.
12. Bertler A., Rosengren E. Experientia (Basel), 15, 10, 382, 1959.

13. *Brodie B., Spector S., Shore P.* Pharm. Rev. Part., 2, 2, 11, 548, 1959.
14. *Cooper A. J., Kedde K. M. G.* Lancet, 1, 1133, 1964.
15. *Crout R.* In „Standard methods of clinical chemistry“, Acad. press, N.Y., 3, 62, цит. по С. Юденфренду: Флуоресцентный анализ в биологии и медицине, М., 1965.
16. *De Robertis E.* цит. по В. З. Форкину из кн.: Биогенные амины, М., 370, 1967.
17. *Dubnik K. B., Morgan D. F., Phillips G. E.* Ann. N. Y. Acad. Sci., 107, 914, 1963.
18. *Haggendal J.* Acta physiol. Scand., 59, 3, 261, 1963.
19. *Iversen L. L.* Цит. по дисс. Н. А. Есаян: Биогенные моноамины в механизме действия ГАМК и некоторых ганглиоблокирующих соединений, Ереван, 53, 1971.
20. *Krebs E. G., Fisher E. H.* Vitamins and Hormones, 22, 399, 1964.
21. *La Motte R. H., Schmidt D. E., Ruffsson W. S. J.* Neurochem., 16, 5, 725, 1969.
22. *Neff N. H., Costa E. J.* Pharmacol. and Exptl. Therap., 160, 1, 40, 1968.
23. *Praagvan H. M., Letjnse B.* Lancet, 2, 103, 1964.
24. *Praagvan H. M., Letjnse B.* Clin. Chim. Acta, 11, 13, 1965.
25. *Pscheldt G. R., Morpurgo C., Hlmwlich H. E.* Proc. 5-th Internat. Neurochem. Symp., Compar. Neurochem., 1964, 1962.
26. *Rosen L., Goodall Mc. C.* Am. J. Physiol., 202, 5, 883, 1962.
27. *Shore P. A.* Цит. по В. З. Горкину из кн.: Биогенные амины, М., 373, 1967.
28. *Shore P. A., Olin J. J.* Pharmacol. and Exptl. Therap., 122, 295, 1958.
29. *Smith T. E., Weissbach H., Udenfriend S.* Biochemistry, 2, 746, 1963.
30. *Von Euler U. S.* In: The structure and function of nervous tissue, 11, 423, 1969.