

УДК 547.446.24:612.8.82

ДЕЙСТВИЕ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ НА  
ВЫСВОБОЖДЕНИЕ  $H^3$ -НОРАДРЕНАЛИНА ИЗ  
СЕМЯВЫНОСЯЩЕГО ПРОТОКА, ЭПИФИЗА  
И НЕЙРОГИПОФИЗА КРЫС

А. Р. АРМЕНЯН, Н. А. ЕСАЯН

Гамма-аминомасляная кислота подавляет вызванное электрической стимуляцией высвобождение  $H^3$ -норадреналина из семявыносящего протока и не оказывает действия на спонтанное высвобождение его из этого органа, а также из эпифиза и нейрогипофиза.

Нами показано, что гамма-аминомасляная кислота (ГАМК)  $10^{-4}$ — $3 \cdot 10^{-3}$  М усиливает спонтанное высвобождение эндогенного норадреналина (НА) из различных областей мозга крыс в опытах *in vivo* и *in vitro* [1, 2]. Аналогичные сдвиги в мозге наблюдались и другими исследователями [3—5]. Обнаружено также усиление высвобождения катехоламинов под действием ГАМК из надпочечников и периферических органов (сердце и селезенка), богатых адренэргическими нервными окончаниями [1, 6, 7]. В нашей лаборатории было установлено, что ГАМК стимулирует спонтанное и вызванное высвобождение  $H^3$ -НА из срезов различных областей мозга, богатых норадренэргическими нервными окончаниями [8—10]. Эти данные соответствуют результатам исследований Филиппу и сотр. [11], которые обнаружили усиление высвобождения НА из заднего гипоталамуса под действием ГАМК. Примечательно, что те дозы ГАМК, которые усиливают высвобождение НА из мозга, вызывают деполяризацию верхних шейных ганглиев в опытах *in vivo* и *in vitro* [12, 13].

Изложенное свидетельствует о непосредственном влиянии ГАМК на норадренэргические окончания мозга и периферических органов и дает основание думать о наличии ГАМК-эргических рецепторов не только на норадренэргических окончаниях в мозге, но и на всех адренэргических окончаниях, т. е. о ГАМК осуществляемой пресинаптической регуляции высвобождения НА. Для подтверждения этого предположения мы изучали влияние ГАМК на высвобождение  $H^3$ -НА из периферического органа (семявыносящий проток) и областей мозга (эпифиз и нейрогипофиз), адренэргически иннервируемых симпатической нервной системой. Эпифиз и нейрогипофиз интересны и тем, что содержат только глиальные клетки. Более того, в глиальных клетках гипофиза обнаружена глутаматдекарбоксилазная активность [14]. Наблюдаемое в наших исследованиях действие ГАМК на высвобождение

ние НА в мозге трудно приписать нейрональной или глиальной ГАМК. С этой точки зрения изучение действия ГАМК на высвобождение НА в этих органах представляет интерес.

*Материал и методика.* Опыты проводились на зрелых белых крысах-самцах весом 150—200 г. После декапитации выделяли эпифиз, нейрогипофиз, семявыносящий проток, который делили на 10—15 мг отрезки. Препараты помещали на 5 мин в Krebs-би-карбонатный буфер, pH 7.4, со следующим солевым составом (в mM): NaCl—113; KCl—4.75;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ —1.2;  $\text{MgSO}_4$ —1.2;  $\text{NaHCO}_3$ —25;  $\text{CaCl}_2$ —2.5; глюкоза—11.5. Потом инкубировали в течение 30 мин при 37° в присутствии ипризида—0.47 мг/мл, аскорбиновой кислоты—0.2 мг/мл. ЭДТА—10 мкг/мл и  $\text{H}^3\text{-НА}$ — $10^{-7}$  М при постоянном токе в смеси 95%  $\text{O}_2$  и 5%  $\text{CO}_2$ . На остальных этапах опыта в буфере ипризид и ЭДТА отсутствовали. По окончании инкубации препараты промывали 35 мин для получения одинаковой картины высвобождения радиоактивности. Затем их в держателях помещали в сцинтилляционные кюветы, содержащие 2 мл буфера при 37°, насыщенного смесью  $\text{O}_2$  и  $\text{CO}_2$ . После двух 5-минутных (в случае эпифиза и нейрогипофиза—2-минутных) инкубаций в обычном буфере препараты помещали в среду, содержащую ГАМК. Электрическая стимуляция осуществлялась прямоугольными импульсами продолжительностью 4 мсек с частотой 10 Гц, напряжением 5 В и длилась 1 мин в присутствии ГАМК ( $10^{-3}$  М) и без нее. Радиоактивность каждой пробы измеряли после добавления 0.5 мл этанола и 10 мл сцинтилляционной жидкости (100 г нафталина, 7 г PPO, 300 мг PPOP на 1 л диоксана).

В опытах, где о высвобождении  $\text{H}^3\text{-НА}$  судили по оставшейся в ткани радиоактивности, после 30-минутной инкубации в присутствии  $\text{H}^3\text{-НА}$  проводили трехкратную промывку препаратов холодным буфером. Затем их помещали в сосудики, содержащие 2 мл буфера, и инкубировали в присутствии ГАМК и без нее в течение 30 мин при 37°. Потом препараты помещали в сцинтилляционные кюветы, заливали 1 мл этанола и оставляли на 18—24 час., после чего добавляли 10 мл сцинтилляционной смеси. Радиоактивность измеряли на жидкостном сцинтилляционном счетчике «Интертехник СЛ-30» (Франция) и выражали в количестве радиоактивных распадов в мин на мг ткани (расп/мин/мг) или расп/мин на весь эпифиз или нейрогипофиз.

Использовали  $\text{H}^3\text{-НА}$  фирмы «Радиохимический центр, Амершам» (Англия) с удельной активностью 7.2—9.8 Кюри/ммоль.

*Результаты и обсуждение.* Мышечные клетки семявыносящего протока крыс имеют обильную адренэргическую и нервную; электрическая стимуляция его приводит к усилению высвобождения  $\text{H}^3\text{-НА}$  [15]. В наших опытах при электрической стимуляции отрезков семявыносящего протока высвобождение  $\text{H}^3\text{-НА}$  сильно увеличивалось (почти в три раза). Так как при многократной стимуляции одного и того же отрезка семявыносящего протока ответ постепенно и значительно уменьшался, стимулировали его разные отрезки однократно. Исследования показали, что высвобождение  $\text{H}^3\text{-НА}$  из семявыносящего протока в ответ на электрическую стимуляцию в присутствии  $10^{-3}$  М ГАМК сильно подавляется (42%) (рис. 1). Исходя из результатов нейрофизиологических исследований, показывающих, что ГАМК деполяризует мембрану адренэргического нейрона и тем самым уменьшает амплитуду потенциала действия, вызванного известными деполяризующими веществами [12], наблюдаемое торможение мы объясняем деполяризацией ГАМК мембраны норадренэргических окончаний. Сопоставляя литературные данные с полученными нами результатами, можно предположить, что эндогенная ГАМК тормозит высвобождение НА из ад-

ренергических окончаний. В пользу последнего говорит усиление  $K^+$ -вызванного высвобождения  $H^3$ -НА из срезов мозга в присутствии би-

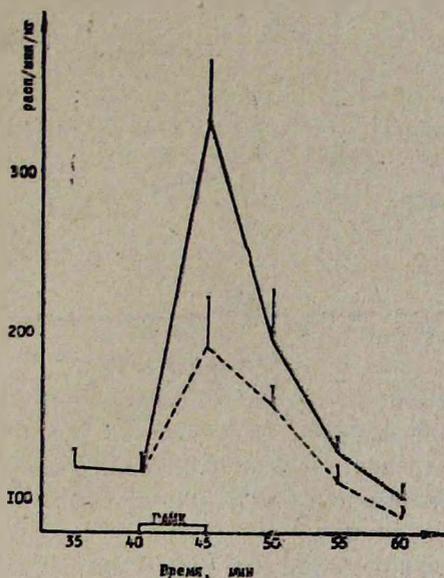


Рис. 1. Влияние ГАМК ( $10^{-3}$  М) на вызванное электрической стимуляцией высвобождение  $H^3$ -НА из семьявыносящего протока. (—) — контроль, (---) — ГАМК. Средние данные 8—11 опытов. \*  $P < 0,025$ .

кукуллина [10]. Полученное в нашей лаборатории усиление высвобождения  $H^3$ -НА из мозговых срезов при добавлении ГАМК на фоне вызванной электрической стимуляции [9] и высоких концентраций  $K^+$  [10] можно приписать высоким концентрациям ГАМК (эндогенной и экзогенной), поскольку при этом наряду с другими нейроактивными веществами высвобождается и эндогенная ГАМК.

Выяснилось, что исследуемые дозы ГАМК ( $10^{-4}$  —  $10^{-3}$  М) не оказывают действия на спонтанное высвобождение  $H^3$ -НА. В этой серии опытов мы изучали изменение содержания  $H^3$ -НА как в ткани, так и в среде (табл. 1 и рис. 2). В семьявыносящем протоке в противоположность мозгу [8] ГАМК не действует на спонтанное высвобождение  $H^3$ -НА, что можно объяснить слабой чувствительностью ГАМК-эргических

Таблица 1  
Влияние различных концентраций ГАМК (М) на содержание  $H^3$ -НА (расп/мин/мг) в семьявыносящем протоке крыс

Контроль	Г А М К		
	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$
$169 \pm 7,5$ (18)	$165 \pm 5$ (12)	$172 \pm 7$ (12)	$177 \pm 13$ (6)

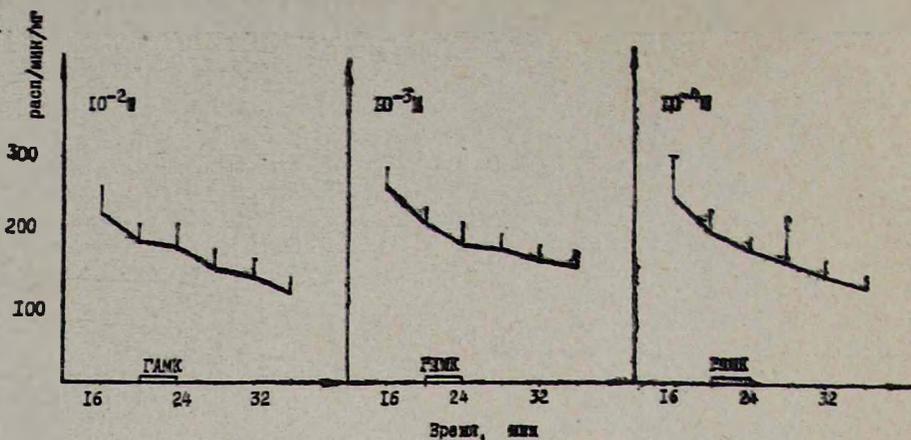


Рис. 2. Влияние ГАМК на спонтанное высвобождение  $H^3$ -НА из семявыносящего протока. Средние данные 5—6 опытов.

рецепторов на норадренэргических окончаниях семявыносящего протока при отсутствии эндогенной ГАМК или наличии ее лишь незначительных количеств в этом органе.

Предварительное изучение действия  $10^{-3}M$  ГАМК на спонтанное высвобождение  $H^3$ -НА из эпифиза и нейрогипофиза изменений не обнаружило (табл. 2 и рис. 3). Этих данных недостаточно для вывода о том,

Таблица 2  
Влияние ГАМК ( $10^{-3}M$ ) на содержание  $H^3$ -НА (расп/мин) в эпифизе и нейрогипофизе

	Контроль	ГАМК
Эпифиз	10271±360 (5)	13418±388 (5)
Нейрогипофиз	3099±338 (5)	3217±486 (5)

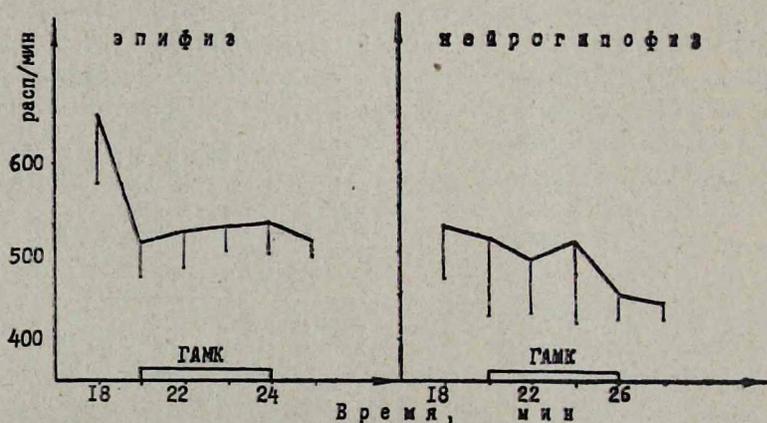


Рис. 3. Влияние ГАМК ( $10^{-3}M$ ) на спонтанное высвобождение  $H^3$ -НА из эпифиза и нейрогипофиза. Средние данные 5 опытов.

что ГАМК не действует на норадренэргические окончания эпифиза и нейрогипофиза. Для этого следует изучить влияние разных концентраций ГАМК на высвобождение  $H^3$ -НА из этих органов.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 17.III 1978 г.

ԳԱՄՄԱ-ԱՄԻՆԱԿԱՐԱԳԱԹՎԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ  
 $H^3$ -ՆՈՐԱԴՐԵՆԱԼԻՆԻ ԱՆՋԱՏՄԱՆ ՎՐԱ ԱՌԵՏԻ ՍԵՐՄԱՍՈՐԱՆԻՑ,  
ԷՊԻՖԻՉԻՑ ԵՎ ՆԵՅՐՈՂԻՊՈՖԻՉԻՑ

Ա. Ռ. ԱՐՄԵՆՅԱՆ, Ն. Հ. ԵՍՍՅԱՆ

Գամմա-ամինակարագաթվի (ԳԱԿԹ) ռեցեպտորների առկայությունը ուղեղի և բուրբ նորադրեներգիկ Վերջույթների վրա պարզելու համար ուսումնասիրվել է ԳԱԿԹ-ի ազդեցությունը  $H^3$ -նորադրենալինի ( $H^3$ -ՆԱ) անջատման վրա՝ սերմնածորանից, էպիֆիզից և նեյրոհիպոֆիզից, որոնք ադրեներգիկ ներվավորում ստանում են սիմպաթիկ ներվային սիստեմից:

Պարզվեց, որ ԳԱԿԹ-ը խիստ ճնշում է էլեկտրական դրդումով առաջացած  $H^3$ -ՆԱ-ի անջատումը սերմնածորանից: ԳԱԿԹ-ի  $10^{-4}$  —  $10^{-3}$  M քանակները  $H^3$ -ՆԱ-ի սպոնտան անջատման վրա չեն ազդում, որը կարելի է բացատրել սերմնածորանում ԳԱԿԹ-ի ռեցեպտորների փոքր զգայունությամբ՝ կապված այդ օրգանում ԳԱԿԹ-ի բացակայության, կամ՝ չնչին քանակներով գտնվելու հետ:

ԳԱԿԹ-ը ( $10^{-3}$  M) չի ազդում  $H^3$ -ՆԱ-ի սպոնտան անջատման վրա էպիֆիզում և նեյրոհիպոֆիզում:

THE EFFECT OF GAMMA-AMINOBUTYRIC ACID ON THE  
RELEASE OF  $H^3$ -NORADRENALINE FROM RAT VAS DEFERENS,  
EPIPHYSIS AND NEUROHYPOPHYSIS

A. R. ARMENIAN, N. H. YESSAIAN

A study of the effect of gamma-aminobutyric acid (GABA) on the spontaneous and evoked release of  $H^3$ -noradrenaline ( $H^3$ -NA) from rat vas deferens indicated that GABA significantly inhibits the evoked release of  $H^3$ -NA from vas deferens without affecting spontaneous release. It was also shown that GABA ( $10^{-3}$  M) did not affect the spontaneous release of  $H^3$ -NA from epiphysis and neurohypophysis.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Есаян Н. А., Армениян А. Р. и Аракелян Л. Н. Вопросы биохимии мозга, 3, 313, Ереван, 1967.
2. Yessaian N. H., Armenian A. R. and Buniatian H. Ch. J. Neurochem., 16, 1425, 1969.
3. Biswas B. and Carlsson H. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 299, 47' 1977.

4. *Biswas B. and Carlsson H.* Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 299, 41, 1977.
5. *Starr M. S. and Tanner T. J.* Neurochem., 25, 573, 1975.
6. *Есаян Н. А.* Вопросы биохимии мозга. 2. 96. Ереван. 1966.
7. *Sanglah S., Borowitz J. L. and Yim J. K. W.* European J. Pharmacol., 27, 130, 1974.
8. *Чифликян М. Д., Манухин Б. Н. и Есаян Н. А.* Физiol. журн. СССР, 64, 1093, 1978.
9. *Чифликян М. Д., Есаян Н. А.* Биологический журнал Армении, 31, 601, 1978.
10. *Тозалакян П. В., Есаян Н. А.* ДАН АрмССР, 66, 168, 1972.
11. *Phillipi A., Przintek H. and Rosenberg W.* Arch. Pharmacol. Exptl. Patol., 276, 103, 1973.
12. *De Groat N. C.* J. Pharmacol., 172, 384, 1970.
13. *Bowery N. G. and Brown D. A.* Br. J. Pharmacol., 50, 205, 1974.
14. *Roberts E., Kuryjama K. and Habor B.* Adv. Biochem. Psychopharmacol., 2, 139, 1970.
15. *Farnebo L. and Malmfors T.* Acta physiol. scand. Suppl., 371, 1, 1971.