

СОДЕРЖАНИЕ КАТЕХОЛАМИНОВ В СИНАПТОСОМАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ ЦНС

Г. С. ХАЧАТРЯН, Л. А. СТЕПАНЯН

Исследовались сдвиги в содержании норадреналина и адреналина в синаптосомах головного мозга крыс при естественных физиологических воздействиях. При пищевом и условнорефлекторном пищевом возбуждении отмечается увеличение их количества. Условнорефлекторное пищевое торможение вызывает уменьшение содержания норадреналина, количество адреналина в синаптосомах при этом не меняется.

В нейрогуморальной регуляции физиологических функций организма особое место занимают катехоламины, серотонин и другие физиологически активные вещества. Катехоламины являются важнейшими транзиттерами в адренергической рецепции и регуляторами приспособительных реакций организма. Они создают возможность для быстрого адекватного перехода организма из состояния покоя в состояние возбуждения или торможения, что вытекает из их свойства нервной регуляции, а также быстро и интенсивно ускорять обменные процессы. Обмен катехоламинов связан с функциональным состоянием нервной системы. Существует определенная связь между содержанием их в головном мозге и поведением животных. В настоящее время есть много данных о влиянии биогенных аминов на условнорефлекторную деятельность, об их участии в процессах воспроизведения и сохранения памятного следа [1—8]. Катехоламины влияют на соотношение процессов возбуждения и торможения в коре и подкорковых центрах головного мозга. Многочисленны исследования, свидетельствующие о медиаторной роли норадреналина в ЦНС. Как эндогенный, так и меченый норадреналин при центрифугировании в градиенте плотности сахарозы сконцентрирован во фракции нервных окончаний [9—10]. За последние годы в литературе появились некоторые данные, говорящие о наличии адреналина в ЦНС и его медиаторной роли [11—13]. Вопрос о транзиттерной роли адреналина и поныне остается дискуссионным, требующим глубокой научной разработки.

Несмотря на наличие ряда исследований в области биохимии катехоламинов и серотонина, раскрытия механизмов их участия в специфической рецепции, роль этих соединений в химической передаче нервных импульсов до конца не выяснена. Много неясного и противоречивого также относительно роли катехоламинов в процессах научения, восприятия, памяти и других реакций поведения животных [14, 15].

В наших прежних исследованиях были выявлены значительные сдвиги в содержании норадреналина и адреналина и активности моноаминоксидазы в целом мозге и его различных отделах в условиях естественных физиологических воздействий [11, 12].

Для выяснения причин мобилизации, связывания и обмена транссмиттеров адренергической природы в субклеточных частицах мозга при различных функциональных состояниях ЦНС ставилась задача изучить содержание норадреналина и адреналина в синапсосомах головного мозга при естественных физиологических воздействиях.

Материал и методика. Исследования были проведены на белых крысах-самцах весом 150—180 г в четырех сериях экспериментов. Различные функциональные состояния мозга вызывали методом условных рефлексов. Для фиксации и регистрации биохимических сдвигов в мозге при том или ином функциональном состоянии применяли метод замораживания подопытного животного в жидком азоте в требуемый момент функциональной активности мозга в условнорефлекторной камере УРК-66 [16]. Первая серия служила в качестве контроля. У крыс второй серии вырабатывали пищевое возбуждение, безусловным раздражителем служило кормление их сахарозой, из расчета 0,4—0,5 г на 100 г веса животного. В третьей серии вырабатывали условный рефлекс по оставленному способу. В четвертой вырабатывали внутреннее торможение методом угашения.

Синапсосомы были выделены по методу Маршбанка [17]. После осаждения ядер при 1000 г надосадочную жидкость центрифугировали на центрифуге Spinco L 2 65 K при 18000 g. В осадок выпадали «грубые митохондрии», которые гомогенизировали в 0,7 М растворе сахарозы и центрифугировали в течение 2-х час при 60000 g. Осажденные митохондрии гомогенизировали в 1,2 М растворе сахарозы и центрифугировали 2 часа при 60000 g. В осадок выпадали чистые митохондрии. Надосадочную жидкость развелили в 3,75 раза и центрифугировали 30 мин при 30000 g, в растворе получали миелиновые фрагменты, в осадок выпадали синапсосомы. Осадок гомогенизировали в 10 мл бидистиллированной воды, прибавляли 0,52 мл 57% HClO_4 , 1 мл 0,2 М ЭДТА и оставляли на холоду. В дальнейшем катехоламины определяли по методике Крута [18]. Адсорбцию проводили в суспензии окиси алюминия. Адсорбированные на окиси алюминия катехоламины количественно переносили на хроматографическую колонку (12×100 мм), элюировали 0,2 N уксусной кислотой. В качестве окислителя применяли феррицианид калия. Для определения содержания норадреналина реакцию проводили при pH 6,2, адреналина—при pH 4,2. Параллельно ставили также реакцию со стандартами норадреналина и адреналина (1-arterenol bitartarat, 1-epi-ephriane bitartarat) марки Sigma. Флуорометрическое определение катехоламинов проводили на спектрофотофлуорометре, сконструированном Г. С. Хачатряном и др. [11]. Количество норадреналина и адреналина выражали в мкг на 1 г свежей мозговой ткани.

Результаты и обсуждение. Данные о сдвигах в содержании норадреналина приведены в табл. 1, согласно которой этот показатель в синапсосомах мозга составляет $0,092 \pm 0,0003$ мкг/г ткани. Полученные результаты в основном согласуются с литературными данными [19].

Функциональные состояния вызывали значительные изменения в этом показателе. Как видно из данных той же таблицы, содержание норадреналина при пищевом возбуждении повышается, составляя $0,117 \pm \pm 0,006$ мкг/г. Такое же повышение отмечается при условнорефлекторном возбуждении ($0,117 \pm 0,01$ мкг/г против $0,092 \pm 0,0003$ мкг/г в контроле). По сравнению с данными контрольных опытов содержание норад-

Таблица 1

Содержание норадреналина в синапсосамах головного мозга при различных функциональных состояниях, мкг/г

	Контроль	Пищевое возбуждение	Условнорефлекторное пищевое возбуждение	Условнорефлекторное пищевое торможение
M±	0,092±0,0003	0,117±0,006	0,117±0,01	0,065±0,003
n	8	6	9	6
б		±0,014	±0,03	±0,022
p		<0,01	<0,05	<0,05

реналина в синапсосамах при возбуждении повышается на 30%. Аналогичное повышение при указанном состоянии отмечалось нами также в целом мозге, в лобной и теменной с височной долях коры головного мозга [11].

Таким образом, мы пришли к заключению, что возбудительный процесс, выработанный на базе естественных физиологических воздействий, сопровождается повышением содержания норадреналина как в целом мозге, его различных отделах, так и в синаптическом аппарате.

Условнорефлекторное торможение вызывает понижение содержания норадреналина в синапсосамах мозга, а также в целом мозге.

Большой интерес представляют результаты исследований, касающиеся сдвигов в содержании адреналина в синапсосамах мозга при различных функциональных состояниях (табл. 2).

Таблица 2

Содержание адреналина в синапсосамах головного мозга при различных функциональных состояниях, мкг/г

	Контроль	Пищевое возбуждение	Условнорефлекторное пищевое возбуждение	Условнорефлекторное пищевое торможение
M±	0,024±0,003	0,03±0,001	0,034±0,001	0,029±0,002
n	12	7	7	7
б		±0,001	±0,001	±0,007
p		<0,001	<0,001	>0,05

Результаты наших предыдущих исследований показали, что в целом мозге при пищевом и условнорефлекторном пищевом возбуждении содержание адреналина значительно, в 3—4 раза, повышается. Такое же изменение количества адреналина отмечается в синапсосамах головного мозга, однако в последних оно, хотя и достоверное, но не столь значительное. При внутреннем торможении заметных сдвигов в содержании адреналина в синапсосамах не отмечалось, хотя в целом мозге имело место недостоверное повышение его. Такое значительное различие в количестве адреналина в синапсосамах, в особенности при

торможении, при котором оно особым изменениям не подвергается, косвенно указывает на менее важную роль его, по сравнению с норадреналином, в адренергической рецепции мозга при торможении.

Таким образом, обобщая результаты исследований, можно отметить, что в синапсосамах, как и в целом мозге, возбуждение вызывает повышение содержания норадреналина и адреналина, а торможение — только снижение количества норадреналина.

Результаты наших исследований представляют определенный интерес, особенно данные о сдвигах в содержании адреналина в синапсосамах, так как в доступной нам литературе мы не встретили сведений о наличии и количестве его в синапсосамах. Это тем более важно, что присутствие адреналина в головном мозге некоторыми исследователями оспаривается [20], хотя в последнее время в головном мозге была обнаружена фенилэтаноламин-N-метилтрансфераза, ответственная за синтез адреналина из норадреналина как *in vitro*, так и *in vivo*. Имеются также работы относительно распределения адреналина в головном мозге [21, 22].

Повышение содержания адреналина в синапсосамах мозга, выявленное при пищевом и условнорефлекторном возбуждении, может иметь значение для выяснения как метаболической, так и медиаторной роли его в ЦНС. Полученные данные могут в какой-то мере служить подтверждением выдвинутой нами гипотезы относительно медиаторной роли адреналина в головном мозге [11, 12].

Нужно отметить, что, хотя в настоящее время имеется много биохимических и фармакологических исследований, посвященных участию норадренергических структур в выработке условнорефлекторных реакций, влиянию катехоламинов на поведение, однако часто приводятся противоречивые и спорные результаты [23].

Введение ингибиторов дофамин- β -гидроксилазы у мышей и крыс приводит к уменьшению норадреналина и ухудшению памяти, к замедлению приобретения условнорефлекторной реакции избегания, причем ее сохранение зависит от соотношения уровней биогенных аминов, находящихся в разных пулах метаболизма, от скорости их обмена [24, 25]. Противоположный эффект оказывает введение в мозг норадреналина [26]. Есть много работ о связи норадренергической системы мозга с процессами самостимуляции, для поддержания которой необходим норадреналин [27]. Фармакологически обусловленные сдвиги в обмене катехоламинов оказывают влияние на эмоциональное, условно-оборонительное поведение, на процессы формирования и воспроизведения следов памяти. Истощение резервов норадреналина в мозге крыс сопровождается снижением синтеза ядерной РНК, а накопление церебрального норадреналина ускоряет этот процесс [28]. У крыс, обученных рефлексу, тестирование после предварительного введения ингибитора синтеза норадреналина вызывает достоверное уменьшение его содержания в норадренергических терминалях [29].

Нужно отметить, что во всех упомянутых работах сдвиги в содер-

жании норадреналина, которые приводили к нарушению условнорефлекторной деятельности, вызывались введением тех или иных препаратов. Полученные нами результаты интересны и важны в том отношении, что касаются обмена катехоламинов при воздействии адекватных раздражителей, максимально приближенных к естественным. Результаты нашей работы указывают на то, что в воспроизведении условнорефлекторных реакций участвуют также норадренергические терминалы головного мозга. В связи с полученными данными возникает вопрос о биохимических механизмах, вызывающих подобные сдвиги. Для ответа на этот вопрос нужно исследовать изменения активности ферментов, ответственных за синтез и распад катехоламинов, а также процессы высвобождения и обратного связывания в условиях естественных физиологических воздействий, что явится задачей наших дальнейших исследований.

Ереванский государственный
медицинский институт

Поступило 18.II 1976 г.

**ԿԱՏԵՆՈԼԱՄԻՆՆԵՐԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ԳԼԵՈՒԴԵՂԻ
ՍԻՆԱՊՏՆԵՐՈՒՄ ԿՆՀ ՏԱՐՔԵՐ ՖՈՒՆԿՑԻՈՆԱԼ ՎԻՃԱԿՆԵՐՈՒՄ**

Գ. Ս. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ, Լ. Հ. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ

Բնական, ֆիզիոլոգիական զրգռիչների ազդեցության պայմաններում սպիտակ առնետների գլխուղեղի սինապտոսոմներում ուսումնասիրվել են նորադրենալինի և ադրենալինի քանակական տեղաշարժերը:

Հետազոտվող նյութերի անջատման և որոշման համար կիրառվել է սյունային քրոմատոգրաֆիա և սպեկտրոֆոտոֆլուորոմետրիա: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ սննդային և պայմանական սննդային դրդման ժամանակ սինապտոսոմներում ավելանում է նորադրենալինի և ադրենալինի քանակը: Պայմանական սննդային արգելակման ժամանակ սինապտոսոմներում պակասում է նորադրենալինի պարունակությունը, իսկ ադրենալինի քանակը չի փոխվում:

**THE CONTENTS OF CATECHOLAMINS IN THE BRAIN
SINAPTOSOMES AT DIFFERENT FUNCTIONAL STATES OF THE
CENTRAL NERVOUS SYSTEM**

G. S. KHACHATRIAN, L. H. STEPANIAN

Changes in noradrenaline and adrenaline contents in the rat brain sinaptosomes have been studied at the natural physiological effects. The increase of noradrenaline and adrenaline contents has been noted during the alimentary and conditioned alimentary stimulation. The conditioned alimentary inhibition causes the decrease in the noradrenaline level. The adrenaline contents in sinaptosomes remains unchanged at this state.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бару А. М., Божко Г. Х. Бюлл. exper. биологии и медицины, 70, 9, 45, 1970.
2. Бородин Ю. С., Крауз В. А. Сб. Память и следовые процессы. Пушкино-на-Оке, 103, 1971.
3. Громова Е. А. Физиологические механизмы памяти. Пушкино-на-Оке, 35, 1973.
4. Комиссаров И. В., Талалаенко А. Н. Бюл. exper. биологии и медицины, 80, 3, 1975.
5. Vicci L., Bovet D. Psychopharmacologia, 35, 179, 1974.
6. Crow T. Y. In: Frontiers in Catecholamine Research, 723, 1973.
7. Fulgnitt S., Orsingher O. Arch. Int. Pharmacodyn. et ther., 190, 291, 1971.
8. Kitsikis A., Roberge A. G., Frenete G. Exptl. Brain Res., 15, 305, 1975.
9. Potter L. T., Axelrod J. J. Pharmacol., 142, 299, 1963.
10. Whittaker V. P. Biophysics and Molecular Biology, 15, Pergamon Press, Oxford, 39, 1965.
11. Степанян Л. А. Канд. дисс., Ереван, 1972.
12. Хачатрян Г. С., Степанян Л. А., Аветисян Н. Г. Вопросы биохимии мозга, 8, 221, Ереван, 1973.
13. Montagu K. J. Biochem., 86, 9, 1963.
14. Dahlström A., Häggendall J. Biochem. Psychopharmacology, 2, 65, 1970.
15. Iversen L. Nature (Engl.), 214, 8, 1967.
16. Хачатрян Г. С. Биохимия головного мозга при нормальных физиологических условиях. Гексозомонофосфатный шунт в мозгу. Ереван, 1967.
17. Marchbanks R. J. Neurochem., 13, 1481, 1966.
18. Юденфренд С. Флуоресцентный анализ в биологии и медицине. М., 1965.
19. Lagercrantz H., Pertoft H. J. Neurochem., 19, 3, 811, 1972.
20. Shore P. A., Olin J. S. J. Pharmacol. and Exptl Therap., 122, 295, 1958.
21. Connet R. J., Kirshner N. J. Biol. Сnem., 245, 329, 1970.
22. Gugten J., Palkovits M., Wijnen H. L. J. M., Verstug D. H. G. Brain Res., 107, 171, 1976.
23. Salama A. I., Coldberg M. E. Life Sci., 12, 521, 1973.
24. Буданцев А. Ю. Моноамнергические системы мозга. М., 1976.
25. Butcher L. L., Engel J., Fuxe K. Brain Res., 41, 387, 1972.
26. Corrodi H., Fuxe K., Lindbrin K., Olson L. Brain Res., 2, 91, 1971.
27. Franklin K. B., Herberg L. J. Brain Res., 97, 127, 1975.
28. Бару А. М., Краева В. С. Бюлл. exper. биологии и медицины, 80, 1975.
29. Князев Г. Г., Никифорова А. М. Физиол. журн. СССР, 62, 169, 1976.