

РЕГУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ГАМК НА ВЫСВОБОЖДЕНИЕ
 НОРАДРЕНАЛИНА—Н³ ИЗ МЕЗО-ДИЭНЦЕФАЛЬНОЙ
 ОБЛАСТИ МОЗГА КРЫС

М. Д. ЧИФЛИКЯН, Н. А. ЕСАЯН

Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) (10^{-3} М) усиливает спонтанное и вызванное электрической стимуляцией высвобождение норадреналина—Н³ (Н³-НА) из срезов мезо-диэнцефальной области мозга крыс. Направленность действия ГАМК на процессы высвобождения Н³-НА зависит от условий инкубации срезов.

Предыдущие исследования, выявившие прямое действие ГАМК на высвобождение Н³-НА из мозговых срезов при отсутствии сдвигов в его синтезе и захвате [1], подтвердили ранее полученные результаты нашей лаборатории о ее действии на высвобождение эндогенного НА [2—5]. Было показано также [1], что влияние ГАМК на высвобождение Н³-НА находится в строгой зависимости от экспериментальных условий: если при 5-минутной преинкубации содержание Н³-НА в срезах уменьшалось по сравнению с инкубированным контролем, то после 30-минутной—оно оставалось на уровне преинкубированного контроля, что указывало на полное ингибирование спонтанного выхода Н³-НА.

Нами исследовалось действие ГАМК на спонтанное и вызванное электрической стимуляцией высвобождение Н³-НА из срезов мезо-диэнцефальной области мозга в зависимости от продолжительности преинкубации непосредственным определением его содержания в среде.

Материал и методика. Опыты проводили на белых крысах-самцах весом 120—150 г. Животных декапитировали, мозг быстро извлекали и на холоду из мезо-диэнцефальной области готовили срезы весом 15 мг.

Спонтанное и вызванное электрической стимуляцией высвобождение Н³-НА определяли по изменению выхода трития в среду [6—10]. Срезы помещали в капровые мешочки и инкубировали 5 или 30 мин в Krebs-бикарбонатном буфере при 37° следующего состава (мм): NaCl—113; KCl—4,75; KH₂PO₄—1,2; MgSO₄—1,2; NaHCO₃—25; CaCl₂—2,5; глюкоза—11,5; витамин С—1,14; рН—7,4. После преинкубации срезы инкубировали дополнительно 30 мин в присутствии этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) (0,05 мг/мл) и ипрязида (0,47 мг/мл) с Н³-НА в концентрации 10^{-7} М. Затем срезы промывали в течение 6 мин, переносили на платиновые электроды и последовательно помещали на 2 мин в кюветы, содержащие по 2 мл буфера. После 16—24-минутного промывания срезы инкубировали с ГАМК (10^{-3} М) в течение 2-х мин и стимулировали в течение 1 мин в электрическом поле, генерированном платиновыми электродами (5 В, 10 гц, 4 мсек). На протяжении всего опыта через физиологический раствор непрерывно пропускали смесь O₂ с CO₂ в соотношении 95 и

5% соответственно. После добавления в каждую пробу по 0,5 мл этанола, 7 мл сцинтилляционной жидкости (100 г нафталина, 300 мг ПОПОП (1,4-ди-5-фенил-2-оксазол бензол), 7 г ППО (2,5-дифенилоксазол) измеряли радиоактивность на жидкостном сцинтилляционном счетчике «Интертехник» СЛ-30 с внешним стандартом. Высвобождение H^3 -НА определяли по радиоактивности фракции и выражали в количестве радиоактивных распадов в минуту (расп/мин).

В опытах использовали ($7H^3$)-НА с удельной активностью 5,8 и 8,9 кюри/мМ фирмы «Амершам» (Англия).

Результаты и обсуждение. В предварительной серии опытов изучали спонтанное высвобождение H^3 -НА из срезов в течение 30 мин. Так как стабилизация наклона кривой высвобождения H^3 -НА, отражающая высвобождение специфически поглощенного H^3 -НА, происходит после 16—20-минутной инкубации, действие ГАМК и электрической стимуляции изучали после этого времени.

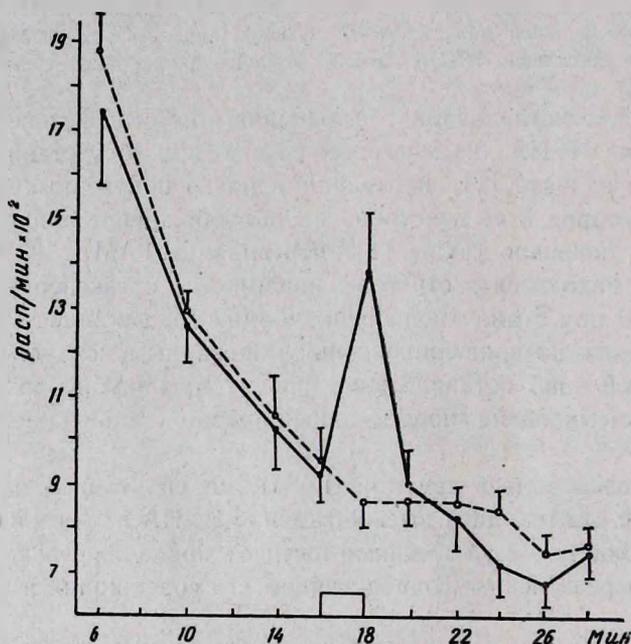


Рис. 1. Действие ГАМК (10^{-3} М) \square на спонтанное высвобождение H^3 -НА (удельная активность 5,8 кюри/мМ) из срезов мезо-диэнцефальной области мозга крыс в зависимости от времени преинкубации: 5 (—) и 30 (---) мин в физиологическом растворе. Средние данные 8—11 опытов. * $P < 0,025$.

Как видно из рис. 1, при 5-минутной преинкубации срезов добавление ГАМК на 16-й мин приводило к увеличению высвобождения H^3 -НА на 455 расп/мин (статистически достоверному), которое, как было показано в нашей лаборатории, является Ca^{++} -зависимым [11]. Эти данные свидетельствуют о деполяризующем действии ГАМК на мембраны адренэргических нервных окончаний и согласуются с результатами электрофизиологических исследований, показывающих деполя-

ризацию мембран адренэргических клеток верхнего шейного симпатического ганглия [12, 13] под действием тех же концентраций ГАМК, которые применялись в наших исследованиях.

С физиологической точки зрения представляло интерес изучение действия ГАМК на высвобождение H^3 -НА, вызванное электрической стимуляцией. Чтобы приблизить изученные эффекты к физиологическим условиям применяли эффективную электрическую стимуляцию с наиболее низкими параметрами (5 В, 10 гц, 4 мсек). Результаты (рис. 2) показали потенцирующее действие ГАМК на высвобождение H^3 -НА, вызванное электрической стимуляцией, что несовместимо с увеличением его спонтанного выхода из мозговых срезов (рис. 1), свидетель-

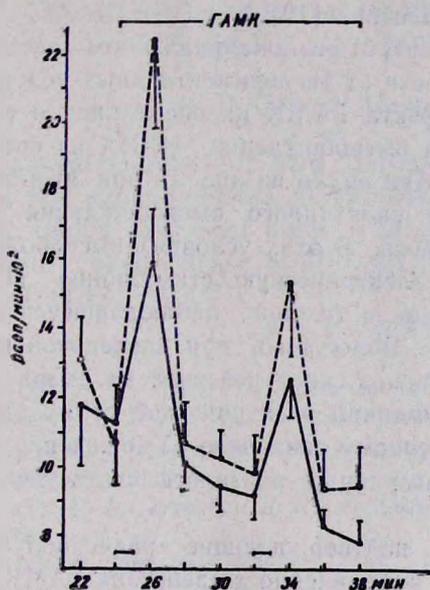


Рис. 2.

Действие ГАМК на вызванное электрической стимуляцией (—|) высвобождение H^3 -НА (удельная активность 8,9 кюри/мМ) из срезов мезо-диэнцефальной области мозга крыс при 5-минутной преинкубации. (—) контроль; (— —) ГАМК. Средние данные 7—10 опытов. * $P < 0,025$.

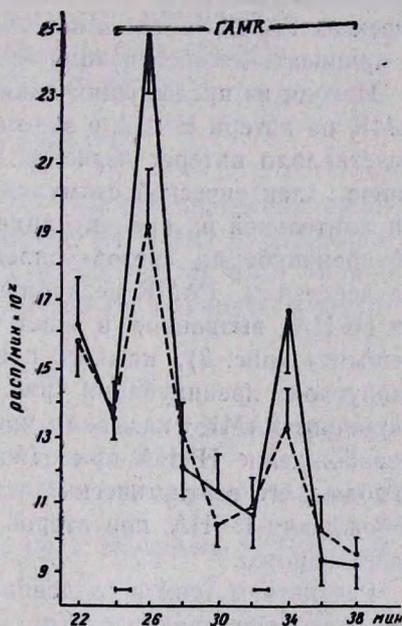


Рис. 3.

Действие ГАМК на вызванное электрической стимуляцией (|—) высвобождение H^3 -НА (удельная активность 8,9 кюри/мМ) из срезов мезо-диэнцефальной области мозга крыс после 30-минутной преинкубации. (—) контроль; (— —) ГАМК. Средние данные 4 опытов. * $P < 0,005$.

ствующего о деполяризации норадренэргических окончаний, находящихся в покое. В физиологических исследованиях принято считать, что деполяризация мембран нервных окончаний приводит к уменьшению вызванного высвобождения медиатора [14]. Уменьшение высвобождения H^3 -НА под действием ГАМК в ответ на электрическую сти-

муляцию наблюдалось нами в отношении семьявносящего протока крысы с низким содержанием в нем эндогенной ГАМК [15]. Известно, что в мозговой ткани находится значительное количество ГАМК, часть которого, по всей вероятности, высвобождается под действием электрической стимуляции срезов. Поэтому не исключено, что потенцирование вызванного явления осуществляется благодаря суммарному эффекту эндогенной и экзогенной ГАМК.

В наших экспериментах эффект ГАМК достоверен при первой электрической стимуляции и ее одновременном добавлении. Потенцирование же высвобождения H^3 -НА во время второй стимуляции на 32-й мин, через 8 мин после начала действия ГАМК оказывается статистически недостоверным. Эти данные, как и предыдущие [1], говорят об эффектах ГАМК только в начальные моменты, что, по-видимому, можно приписать десенситизации ее рецептора [13].

Исходя из предыдущих данных [1] о разнонаправленном действии ГАМК на потери H^3 -НА в зависимости от экспериментальных условий, представляло интерес изучение эффекта ГАМК на спонтанное и вызванное электрической стимуляцией высвобождение H^3 -НА из срезов при длительной их преинкубации. Как видно из рис. 1, при 30-минутной преинкубации срезов усиления спонтанного высвобождения НА под действием ГАМК не наблюдалось. В этих условиях высвобождение H^3 -НА, вызванное в ответ на электрическую стимуляцию (1133 расп/мин) (рис. 3), намного превышало таковое, наблюдавшееся при 5-минутной преинкубации (рис. 2). Более того, при длительной преинкубации ГАМК оказывала противоположное действие на вызванное высвобождение H^3 -НА при одновременной электрической стимуляции, приводя к его статистически достоверному снижению. Уменьшение высвобождения H^3 -НА при второй стимуляции оказалось статистически недостоверным.

Результаты этих исследований, подтверждающие ранее полученные, позволяют предположить, что направленность действия ГАМК на процессы высвобождения НА зависит от внутриклеточного ионного состава норадренэргических окончаний, который подвержен несомненным изменениям в зависимости от продолжительности инкубации [16, 17]. Исходя из известного положения о важном значении ионов Cl^- в действии ГАМК [12], можно предположить, что наблюдаемые разнонаправленные действия ГАМК, по всей вероятности, обусловлены повышением внутриклеточного содержания ионов Cl^- .

На основании изложенного, мы полагаем, что ГАМК является тонким пресинаптическим регулятором процесса высвобождения НА в мозге, и очень возможно, что подобная реверсия действия ГАМК может происходить в интактном мозге в зависимости от изменения функционального состояния норадренэргического нейрона.

ԳԱՄԱ-ԱՄԻՆՈԿԱԲԱԳԱԹՔՎԻ ԿԱՐԳԱՎՈՐՈՂ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ԱՌՆԵՏԻ ՈՒՂԵՂԻ ՄԵԶՈ-ԴԻԷՆՑԵՖԱԼԻԿ ՀԱՏՎԱԾԻՑ
H³-ՆՈՐԱԴՐԵՆԱԼԻՆԻ ԱՆՋԱՄԱՆ ՎՐԱ

Մ. Գ. ԶԻՆԼԻԿՅԱՆ, Ն. Հ. ԵՍԱՅԱՆ

Գամա-ամինակարագթթուն (ԳԱԿԹ-ն) ուժեղացնում է H³-նորադրենալինի սպոնտան և էլեկտրական դրդապատճառով առաջացած անջատումը առնետի ուղեղի մեզո-դիէնցեֆալիկ հատվածի կտրվածքներից: H³-նորադրենալինի անջատման պրոցեսի վրա ԳԱԿԹ-ի ազդեցության բնույթը կախված է կտրվածքների նախահնկուբացիայի տևողությունից:

REGULATION OF H³-NORADRENALINE RELEASE
IN MESODIENCEPHALIC REGION OF RAT BRAIN
BY GAMMA-AMINO BUTYRIC ACID

M. D. CHIFLIKIAN, N. H. YESSAIAN

Gamma-aminobutyric acid (GABA) (10^{-3} M) potentiates the spontaneous and evoked release of H³-noradrenaline (H³-NA) in mesodiencephalic region of the rat brain. The effect of GABA on both spontaneous and evoked release of H³-NA is reversed by prolonged preincubation of slices.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Чифликян М. Д., Есаян Н. А., Манухин Б. Н. Физiol. журн. СССР, 7, 1978.
2. Yessaian N. H. В сб.: Вопр. биохимии мозга, 2, 96, Ереван, 1966.
3. Yessaian N. H., Armenian A. R., Arakelian L. H. В сб.: Вопр. биохимии мозга 3, 313, Ереван, 1967.
4. Yessaian N. H., Armentan A. R., Buniatian H. Ch. J. Neurochem. 16, 1425—1433, 1969.
5. Есаян Н. А. Докт. дисс., Ереван, 1971.
6. McIlwain H., Snyder S. H. J. Neurochem. 176, 521—530, 1970.
7. McIlwain H. Practical Neurochem. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1975.
8. Baldessarini R. J., Kopin I. J. Science. 152, 1630—1631, 1966.
9. Katz R. J., Kopin I. J. Biochem. Pharmacol., 18, 1935—1939, 1969.
10. Orrego F., Jankelevich J., Ceruti L., Ferrera E. Nature (Lond) 251, 55—57, 1974.
11. Аракелян Л. Н., Есаян Н. А. Биологический журнал Армении, 31, 5, 1978.
12. Adams P R., Brown B. A. J. Physiol., 250, 85—120, 1975.
13. Bowery N. G., Brown D. A. Br. J. Pharmacol., 50, 205—218, 1974.
14. Eccles J. C., Schmidt R., Wills W. D. J. Physiol., 168, 500—530, 1963.
15. Арменян А. Р., Есаян Н. А. Биологический журнал Армении, 1978 (в печати).
16. Gibson I. M., McIlwain H. J. Physiol. (Lond) 176, 261—283, 1965.
17. Campbell C. W. B. Brain Res., 101, 594—599, 1976.