

СОДЕРЖАНИЕ СЕРОТОНИНА И КАТЕХОЛАМИНОВ В МОЗГЕ
ПРИ ДЕЙСТВИИ АДЕНОЗИН-3'-5'-МОНОФОСФАТА, ГИСТИДИНА
ИМИДАЗОЛА И ТРИПТОФАНА

Г. С. ХАЧАТРЯН, Г. Г. БАКУНЦ

Изучено влияние внутрицеребрально введенных цАМФ, гистидина, имидазола и триптофана на эффекты прямой и обратной связи регуляции секреции катехоламинов и серотонина в головном мозге. Аденозин-3',5'-монофосфат, вызывая снижение содержания серотонина, значительно повышает количество дофамина и норадреналина на 15-й мин. Гистидин достоверно понижает содержание серотонина, норадреналина и дофамина во все сроки исследования. Выявлен определенный синергизм в действии гистидина и имидазола на содержание серотонина на 5-й мин. Триптофан, не оказывая влияния на количество дофамина, понижает содержание норадреналина на 5-й и 15-й мин и серотонина на 15-й и 30-й мин исследования.

Ключевые слова: серотонин, катехоламины, мозг.

Раскрытие молекулярных механизмов саморегулирующихся систем высокого порядка и участие в них эффекторов или модуляторов положительной и отрицательной индукции биохимических реакций поставило на повестку дня проблему изучения биохимической природы систем, регулирующих и поддерживающих деятельность ЦНС в процессе осуществления ее высших функций. Изучение роли нейроактивных веществ и вторичных мессенджеров (циклические нуклеотиды и другие регуляторы метаболизма, пролиферации и дифференциации клеток) открывает принципиально новые пути исследования нейрогуморальных регуляторных влияний на высокодифференцированные клеточные системы организма. К числу трансммиттеров, выделение которых индуцируется аденозин 3',5'-монофосфатом (цАМФ), относятся норадреналин, 5-гидрокси-триптамин, октопамин и гистидин [16]. Разнообразные функции циклических нуклеотидов в различных тканях осуществляются регуляцией активности ферментов—протеинкиназ, широко представленных в мозгу и других тканях [13]. Соотношение концентраций циклических нуклеотидов (цАМФ/цГМФ) может контролировать активность протеинкиназ, фосфорилирующих белки и ведущих к биосинтезу тирозингидроксилазы [4], основного регуляторного фермента на пути биосинтеза катехоламинов. В основе интегративной деятельности сложных нейропальных связей лежат процессы регуляции обратных связей. Ингибиторный анализ позволил высказать допущение относительно механизма положительной

обратной связи, обусловленной активацией пресинаптических β -адренорецепторов и осуществляемой увеличением уровня цАМФ в окончаниях адренергических нервов [12]. Электрофоретическое введение циклических нуклеотидов в один и тот же нейрон посредством трехствольного микроэлектрода вызывает разные эффекты. Гуанозин-3'-5'-монофосфат (цГМФ) обычно гиперполяризует нейрон, деполяризованный после инъекции цАМФ [1]. Несмотря на многочисленные исследования в области биохимии катехоламинов, серотонина, других биологически активных веществ и раскрытие некоторых сторон их участия в специфической реакции, их роль в химической передаче импульсов в центральных синапсах недостаточно выяснена. В свете вышеизложенного нами изучено действие цАМФ, гистидина, имидазола и триптофана в концентрациях, не превышающих их естественное содержание в клетке, на содержание серотонина и катехоламинов в мозге.

Материал и методика. Опыты ставились на белых крысах-самцах весом 120—180 г, которым внутривенно вводили цАМФ, гистидин, имидазол и триптофан в различных сериях экспериментов. Первая серия подопытных крыс служила контролем. Крыс второй, третьей и четвертой серий забивали через 5, 15 и 30 мин после введения индуктора. Содержание серотонина и катехоламинов определяли флуорометрическим методом Юденфренда [17] в описании Ансела и Биссона [31]. Метод основан на экстракции моноаминов из мозговой ткани кислым бутанолом и переводе их в водную фазу. Далее моноамины экстрагировали в 2М растворе уксуснокислого натрия, а норадреналин и дофамин при этом адсорбировали на окиси алюминия. Затем проводили экстракцию бутанолом в боратном буфере, рН 10, переводили серотонин в фазу фосфатного буфера и добавляли нингидрин, после чего определяли флуоресценцию нингидринового производного серотонина. Определение катехоламинов проводили триоксииндоловым методом. В качестве окислителя применяли йод.

Результаты и обсуждение. Результаты проведенных исследований показали, что на 5-й мин введения цАМФ (2,28 нМ/г) содержание серотонина в мозге понижается на 21,4% (табл. 1). На 15-й мин содержание

Таблица 1
Сдвиги в содержании серотонина, норадреналина и дофамина в мозге, мкг/г ткани, при внутривенном введении цАМФ

Контроль		5-я минута	15-я минута	30-я минута
Серотонин				
M ± m	0,72 ± 0,039	0,566 ± 0,038	0,656 ± 0,04	0,63 ± 0,052
n	13	16	10	13
P		< 0,01	< 0,4	< 0,2
Норадреналин				
M ± m	0,366 ± 0,02	0,361 ± 0,025	0,466 ± 0,03	0,363 ± 0,02
n	16	6	6	14
P		> 0,5	< 0,025	> 0,5
Дофамин				
M ± m	1,064 ± 0,084	1,271 ± 0,08	2,18 ± 0,15	1,31 ± 0,11
n	12	10	6	14
P		= 0,1	< 0,001	= 0,05

норадреналина увеличивалось. На 5 и 15-й мин обнаружено увеличение количества дофамина, при этом содержание дофамина на 15-й мин увеличивалось более чем в 2 раза по сравнению с контролем. Для интерпретации выявленных нами сдвигов представляют интерес исследования Грингарда [8], показавшего, что при раздражении верхнего шейного симпатического узла кролика повышается концентрация цАМФ, постганглионарное раздражение не вызывает этого увеличения, что говорит о связи цАМФ с процессом синаптической передачи. Согласно исследованиям Филлипсона и др. [15], дофамин в черном веществе мозга может функционировать в качестве нейротрансмиттера. Дофамин на 100% стимулирует образование цАМФ гомогенатом ткани из указанной части мозга, норадреналин—на 80%.

Наблюдаемое нами значительное повышение содержания дофамина при действии цАМФ на целый мозг, по-видимому, обусловлено дофаминными нейронами стриопаллидарной системы, богатой специфическими рецепторами. В области хвостатого ядра, богатого дофаминными рецепторами, найдена аденилциклаза, активируемая небольшим количеством дофамина. Высказано предположение, что дофаминчувствительная аденилциклаза хвостатого ядра является дофаминным рецептором. При электрической стимуляции нигронеостриарных путей у крыс в течение 20 мин повышалось количество H^3 -дофамина в полосатом теле, синтезирующегося из H^3 -триозина или H^3 -фенилаланина, соответственно на 88 и 138%. Усиление импульсного потока в дофаминергических путях активирует тирозингидроксилазу и синтез дофамина в соответствующих нейронах [14]. Полагают, что два механизма регулируют синтез катехоламинов в нервном окончании: первый усиливает синтез катехоламинов по принципу отрицательной обратной связи, вследствие выброса норадреналина из нервного окончания, а второй связан с новообразованном ферментов синтеза. В исследовании Эбштейн и др. [6] дофамин (10^{-6} М) и апоморфин ($6,5 \cdot 10^{-7}$ М) в опытах *in vitro* угнетали активность тирозингидроксилазы в синапсосомах полосатого тела мозга крысы на 32 и 51% соответственно, однако в присутствии дибутирилцАМФ (10^{-3} М) ингибирующий эффект их снижался на 15 и 21%. Стимуляция цАМФ активности тирозингидроксилазы при добавлении в инкубационную среду дофамина или апоморфина составляла 94 и 160%, а при отсутствии их—54 и 59%. На основании того, что дибутирилцАМФ угнетал ингибирующее действие дофамина и апоморфина на активность тирозингидроксилазы, было высказано предположение, что циклические нуклеотиды стимулируют активность синапсосомальной тирозингидроксилазы в результате увеличения концентрации кофактора или аллостерической активации фермента. Возможность активации тирозингидроксилазы не только через усиление синтеза фермента, но и через кофактор подтверждается в исследованиях Кетлера и др. [11], которые вводили тетрагидробиоптерин в/в или в боковой желудочек мозга, затем в боковой желудочек вводили H^3 -тирозин. Через 15 мин после его введения измерение радиоактивности показало, что тетра-

гидроксиоптерин в полосатом теле отчетливо активирует гидроксильирование тирозина в ДОФА и дофамин, в особенности через 10 или 15 мин после введения, что говорит о лимитирующей роли кофермента (а не апофермента) тирозингидроксилазы в полосатом теле. Выявленное нами повышение содержания дофамина в целом мозге при введении цАМФ мы объясняем активацией тирозингидроксилазы в стриопаллидарной системе крыс в связи с тем, что нами не обнаружено значительных изменений в содержании дофамина при введении цАМФ в коре больших полушарий.

Уменьшение содержания серотина при введении цАМФ в наших опытах может быть результатом ускорения метаболизма серотонина, так как выявлено участие серотонина в механизме действия апоморфина, который ускоряет метаболизм серотонина в головном мозге крыс; эффект его является результатом стимуляции рецепторов дофамина в головном мозге [7].

Для раскрытия механизмов участия гистидина и имидазола в процессе синаптической передачи нами исследовано их действие при внутрицистернальном введении в концентрации 15 мкМ/г веса животного на содержание серотонина, норадреналина и дофамина в мозге. Сопоставление полученных данных выявляет синергизм в действии гистидина и имидазола: достоверное уменьшение содержания серотонина на 5-й мин введения (табл. 2 и 3). Данные таблиц показывают, что под

Таблица 2

Сдвиги в содержании серотонина, норадреналина и дофамина в мозге, мкг/г, при внутрицистернальном введении гистидина

Контроль	5-я минута	15-я минута	30-я минута
Серотонин			
$M \pm m$	$0,69 \pm 0,046$	$0,434 \pm 0,02$	$0,578 \pm 0,033$
n	8	6	6
P		$< 0,005$	$= 0,1$
Норадреналин			
$M \pm m$	$0,418 \pm 0,029$	$0,38 \pm 0,016$	$0,313 \pm 0,007$
n	8	6	6
P		$< 0,4$	$< 0,01$
Дофамин			
$M \pm m$	$1,139 \pm 0,11$	$0,82 \pm 0,067$	$0,823 \pm 0,113$
n	8	6	6
P		$< 0,05$	$< 0,1$

влиянием имидазола снижение содержания норадреналина также наступает на 5-й мин, хотя при действии гистидина оно оказалось недостоверным. На 15, 30-й мин под действием обоих индукторов наблюдалось достоверное уменьшение содержания норадреналина. Гистидин снижает содержание дофамина на 5-й мин, а при введении имидазола уменьшение количества дофамина было недостоверным. Согласно лите-

ратурным данным [12], производные имидазола образуют циклические соединения с пиридоксальфосфатом. Гистамин, гистидин и его метильные производные образуют шиффово основание. Образование цикличес-

Таблица 3

Сдвиги в содержании серотонина, норадреналина и дофамина в мозге, мкг/г, при внутрицистернальном введении имидазола

Контроль	5-я минута	15-я минута	30-я минута	
Серотонин				
$\frac{M \pm m}{n}$ P	$0,618 \pm 0,021$ 8	$0,47 \pm 0,01$ 6 <0,001	$0,661 \pm 0,02$ 6 <0,2	$0,497 \pm 0,04$ 6 <0,025
Норадреналин				
$\frac{M \pm m}{n}$ P	$0,47 \pm 0,024$ 6	$0,39 \pm 0,01$ 6 <0,025	$0,283 \pm 0,043$ 6 <0,01	$0,382 \pm 0,021$ 6 <0,05
Дофамин				
$\frac{M \pm m}{n}$ P	$1,08 \pm 0,061$ 7	$0,94 \pm 0,065$ 6 >0,5	$1,032 \pm 0,039$ 6 >0,5	$1,088 \pm 0,074$ 6 >0,5

ких соединений пиридоксальфосфата с производными имидазола, а также индола в определенных физиологических условиях лишает кофермент биологической активности и ведет к ингибированию соответствующего фермента. Обнаруженное нами уменьшение содержания серотонина, норадреналина и дофамина при действии как гистидина, так и имидазола может быть и результатом образования циклических соединений производных имидазола с пиридоксальфосфатом, ведущего к ингибированию активности декарбоксилаз, специфичных для 5-окситриптофана и ДОФА.

Для изучения роли триптофана, содержащего активную индолую группу и являющегося предшественником серотонина, нами исследовано влияние триптофана (15 мкМ/г) на содержание серотонина, норадреналина и дофамина в мозге.

Хиппа [10] обнаружено линейное увеличение активности триптофангидроксилазы в мозге и плазме крови после введения следовых концентраций H^3 -триптофана. Полученные нами данные (табл. 4) свидетельствуют о понижении уровня серотонина на 15 и 30-й мин при некотором повышении его содержания на 5-й мин после введения триптофана. Видимо, в наших опытах скорость синтеза серотонина к 5-й мин увеличивается, что выражается в некотором увеличении содержания серотонина, которое затем сменяется подавлением синтеза. Подтверждением нашего допущения являются данные исследования Хамона и др. [9], в котором выявлено подавление синтеза серотонина конечным продуктом реакций в стриарной системе крыс. Карсон и Марсден [5] показали, что после введения крысам триптофана увеличивается интенсивность обмена се-

Сдвиги в содержании серотонина, норадреналина и дофамина в мозге, мкг/г, при внутрицестернальном введении триптофана

Контроль	5-я минута	15-я минута	30-я минута
Серотонин			
$\frac{M \pm m}{n}$ P	$0,55 \pm 0,072$ 6	$0,578 \pm 0,037$ 6 >0,5	$0,34 \pm 0,015$ 9 <0,025
			$0,355 \pm 0,017$ 6 <0,05
Норадреналин			
$\frac{M \pm m}{n}$ P	$0,406 \pm 0,028$ 6	$0,32 \pm 0,05$ 6 <0,025	$0,328 \pm 0,038$ 6 <0,2
			$0,44 \pm 0,01$ 6 >0,2
Дофамин			
$\frac{M \pm m}{n}$ P	$1,41 \pm 0,055$ 6	$1,31 \pm 0,06$ 6 <0,4	$1,34 \pm 0,071$ 6 <0,5
			$1,4 \pm 0,02$ 6 >0,5

ротонина, исследуемого по изменению содержания 5-оксиндолилуксусной кислоты. Возможно, и в наших опытах уменьшение содержания норадреналина является следствием повышения активности моноаминоксидазы.

Ереванский медицинский институт,
лаборатория биосинтетических реакций мозга,
отдел биохимии ЦНИЛ

Поступило 18.I 1980 г.

ՍԵՐՈՏՈՆԻՆԻ ԵՎ ԿԱՏԵՆՈԼԱՄԻՆՆԵՐԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՒՂԵՂՈՒՄ ԱԳԵՆՈՋԻՆ—3՛,5՛—ՄՈՆՈՖՈՍՖԱՏԻ, ՀԻՍՏԻՌԻՆԻ, ԻՄՐԻՊՁՈՂԻ ԵՎ ՏՐԻՊՏՈՖԱՆԻ ԱՋԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

Գ. Ս. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ, Գ. Գ. ԲԱԿՈՒՆՅ

Ուսումնասիրվել է ցԱՄՖ-ի, հիստիդինի, իմիդազոլի և տրիպտոֆանի ներցիտտերնալ ներմուծման ազդեցությունը գլխուղեղի կատեխոլամինների և սերոտոնինի սեկրեցիայի կանոնավորման ուղիղ և հետադարձ կապերի էֆեկտների վրա: Ազենոլին—3՛,5՛—մոնոֆոսֆատը, առաջ բերելով սերոտոնինի քանակի իջեցում, որոշակիորեն բարձրացնում է դոֆամինի և նորադրենալինի պարունակությունը հետազոտության 15 րոպեին: Հետազոտության բոլոր ժամկետներում հիստիդինը հավաստիորեն իջեցնում է սերոտոնինի, նորադրենալինի և դոֆամինի պարունակությունը: Յույց է տրված հիստիդինի և իմիդազոլի ազդեցության որոշակի սիներգիզմ ուղեղում սերոտոնինի պարունակության վերաբերյալ: Տրիպտոֆանը ազդեցություն չգործելով դոֆամինի քանակական տեղաշարժերի վրա, իջեցնում է նորադրենալինի պարունակությունը հետազոտության 5 և 10 րոպեներին և սերոտոնինի պարունակությունը—15 և 30 րոպեներին:

THE CONTENT OF SEROTONIN AND CATECHOLAMINES IN THE BRAIN UNDER THE EFFECT OF ADENOSINE-3'5'-MONOPHOSPHATE, HISTIDINE, IMIDAZOLE AND TRYPTOPHAN

G. S. KHACHATRIAN, G. G. BAKUNTS

The effect of intracisternally injected cAMP, histidine, imidazole and tryptophan on the action of direct and reverse feed back of secretion regulation of catecholamines and serotonin in the brain has been studied. Decrease of the content of serotonin and adenosine-3'5'-monophosphate considerably increases the content of dopamine and noradrenaline for 15 min. Histidine decreases the content of serotonin, noradrenaline and dopamine during the whole research period. A definite synergism in the effect of histidine and imidazole on the content of serotonin for 5 min. has been revealed. Tryptophan does not affect the quantity of dopamine and decreases the content of noradrenaline and serotonin.

ЛИТЕРАТУРА

1. Либерман Е. А., Минина С. В., Голубцов К. В. Биофизика, 1, 75, 1977.
2. Adler-Granschinsky Ed., Langer S. Z. Brit. J. pharmacol., 53, 43, 1975.
3. Ansell G. B., Beeson M. F. Analytical Biochem., 23, 2, 196, 1968.
4. Costa E., Guidotti A. and Hanbauer I. Life Sci., 14, 7, 1169—1188, 1974.
5. Curzon G., Marsden G. A. J. Neurochem., 25, 3, 251—256, 1975.
6. Ebstein B., Roberge C., Tabachnic J., Coldstein M. J. Pharm. and Pharmacol., 26, 975—977, 1974.
7. Grabowski M. Pol. J. Pharm. and Pharmacol., 28, 389—394, 1976.
8. Greengard P. Nature, 260, 5547, 101—108, 1976.
9. Hamon M., Bourgojn S., Morot-Gaudry Y., Glowinski J. Nature New Biol., 237, 75, 184—187, 1972.
10. Huypä M. T., Cardinali D. P., Baumgarten H. G., Wurtman R. J. J. Neural. Transm., 34, 2, 111—124, 1973.
11. Kettler P., Bartholini G., Pletscher A. Nature, 249, 5456, 476—478, 1974.
12. Kierska D., Maslinski Cz. Biochem. Pharmacol., 20, 1951—1959, 1971.
13. Miyamoto E., Kuo J. F. and Greengard P. S. J. Biol. Chem., 244, 6395, 1969.
14. Murrin L., Roth R. Mol. Pharm., 12, 463—475, 1976.
15. Nathanson J. A. and Greengard P. Proc. natn. Acad. Sci. USA, 71, 797, 1974.
16. Phillipson O., Horn A. Nature, 261, 5559, 418—420, 1976.
17. Rall T. W. Ann. N.Y. Acad. Sci., 185, 520, 1971.
18. Udenfriend S., Weissbach H. and Clark C. J. Biol. Chem., 215, 337, 1955.