

СОДЕРЖАНИЕ СЕРТОНИНА, КАТЕХОЛАМИНОВ И АКТИВНОСТЬ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОПАРАТИРЕОЗЕ

Д. Н. ХУДАВЕРДЯН, Н. Р. АЗГАЛДЯН, Г. Г. БАКУНЦ

Изучены содержание серотонина, дофамина, норадреналина, адреналина и активность моноаминоксидазы в коре лобной доли больших полушарий, гипоталамусе, стволе и спинном мозге в разные сроки экспериментального гипопаратиреоза. Показано снижение содержания моноаминов и повышение активности моноаминоксидазы во всех отделах мозга в зависимости от срока исследования.

Ключевые слова: серотонин, катехоламины цАМФ, Ca^{++} .

В настоящее время установлено, что действие биологически активных веществ, в том числе катехоламинов, серотонина, нейроактивных пептидов, нуклеотидов и ряда гормонов, реализуется посредством циклических нуклеотидов и других внутриклеточных медиаторов. Ионы Ca^{++} играют важную роль в реализации эффектов гормонов, связанных с активацией аденилциклазы и увеличением содержания циклического АМФ (цАМФ) в клетке. В результате образования цАМФ из АТФ кальций из связанного состояния в комплексе АТФ-Са переходит в диссоциированное состояние [14], это ведет либо к высвобождению Ca^{++} , либо к комплексованию с другими акцепторами, что может привести к изменению структуры и функции мембраны, изменению ионной проницаемости и модификации синаптической передачи.

В связи с предположением, что кальций-регулирующие гормоны помимо специфических воздействий на обмен клеток-мишеней влияют и на кальций-зависимые процессы в возбудимых клетках, нами изучены содержание моноаминов и активность моноаминоксидазы (МАО) в коре лобной доли больших полушарий, гипоталамусе, стволе и спинном мозге крыс при экспериментальном гипопаратиреозе, характеризующемся гипокальциемией, снижением уровня цАМФ в клетках-мишенях и глубокими нарушениями синаптической передачи.

Материал и методика. Опыты ставились на белых крысах-самцах массой 120—150 г, у которых под эфирным наркозом электрокоагуляцией удаляли паращитовидные железы. Животных забивали в жидком азоте. Содержание моноаминов и активность МАО определяли у контрольных и паратиреопривных крыс на 4-й и 14-й дни после удаления паращитовидных желез, контролируя содержание Ca^{++} в крови. О степени развившейся паратиреоидной недостаточности судили по снижению содержания каль-

ция в сыворотке крови, определяемого фотометрически. Содержание серотонина и дофамина определяли флуориметрическим методом Юденфренда в описании Ансела и Биссона [5] в одной и той же пробе мозговой ткани. Метод основан на экстракции моноаминов из мозговой ткани кислым бутанолом и переводе их в водную фазу. При флуориметрии определяли нингидриновое производное серотонина. Пик возбуждения—385, пик испускания—495 мкм. Определение дофамина проводили триоксиндоловым методом, в качестве окислителя применяли йод. Пик возбуждения—320, пик испускания—370 мкм. Содержание адреналина и норадреналина определяли флуориметрически по методу Юденфренда в модификации Крута [20], экстрагировали из мозговой ткани перхлорной кислотой и проводили адсорбцию в хроматографической колонке на специально обработанной окиси алюминия. Элюировали уксусной кислотой, в качестве окислителя применяли железосинеродистый калий. Пик возбуждения—510, пик испускания—415 мкм. Определение активности МАО проводили по методике Горкина и сотр. [2], основанной на том, что при окислительном дезаминировании β -фенилэтиламина образуется окрашенное вещество, обладающее максимумом поглощения в водных растворах при 420—450 мкм [23]. Оптическую плотность опытной пробы измеряли против контрольной сразу же после добавления субстрата при 450 мкм на спектрофотометре СФ-4 с термостатируемым кюветодержателем при 37°. Измерения повторяли каждые 60 сек в течение 6 мин. За единицу активности фермента принимали такое количество его, которое в стандартных условиях вызывает увеличение оптической плотности на 0,001 за 1 мин.

Результаты и обсуждение. Результаты наших исследований, приведенные в табл. 1, свидетельствуют о снижении содержания моноаминов во всех исследованных зонах мозга—коре лобной доли больших полушарий, гипоталамусе, стволе и спинном мозге. Анализ полученных данных выявил уменьшение количества серотонина в коре лобной доли, гипоталамусе и стволе мозга на 4-й день исследований, составляющее 57,5 и 52% соответственно, значительное уменьшение количества дофамина выявлено в гипоталамической области, на 4-й день содержание его составляет у паратиреопривных крыс $0,991 \pm 0,05$, у контрольных $1,58 \pm 0,03$ мкг/г ткани. Наиболее выраженное снижение уровня адреналина обнаружено в спинном мозге на 4-й день исследований (78,7%) и в стволе мозга на 14-й день (63,5%). Надо отметить, что количество адреналина в стволе мозга на 4-й день исследований не изменяется. В гипоталамической области и лобной коре падение уровня адреналина на 4-й день составляет 30 и 16,7%, однако наибольшее снижение его отмечено в гипоталамусе на 14-й день. В содержании норадреналина значительные сдвиги выявлены в спинном мозге, стволе на 4-й день исследований, в гипоталамической области и лобной коре на 14-й день.

Для исследования причин, вызывающих резкие сдвиги в содержании моноаминов при гипопаратиреозе, мы изучили активность МАО, осуществляющей окислительное дезаминирование моноаминов (табл. 2). Нами обнаружена корреляция между сдвигами в содержании серотонина, дофамина и активностью МАО в ранние и поздние сроки гипопаратиреоза. Подобной корреляции не выявлено в отношении норадреналина и адреналина в поздние сроки.

В литературе широко обсуждаются данные о природе, свойствах, субстратной специфичности, множественности форм митохондриальной МАО [9]. В мозге идентифицированы два типа МАО: А и В. Фермент

Зоны	Дофамин			Норадреналин		
	контроль	4-й день	14-й день	контроль	4-й день	14-й день
Гипоталамус $M \pm m$ P	$1,58 \pm 0,03$	$0,991 \pm 0,05$ <0,001	$1,312 \pm 0,1$ <0,05	$0,775 \pm 0,04$	$0,575 \pm 0,6$ <0,05	$0,308 \pm 0,45$ <0,01
Ствол $M \pm m$ P	$1,4 \pm 0,07$	$1,0411 \pm 0,09$ <0,025	$1,183 \pm 0,06$ =0,5	$0,4 \pm 0,03$	$0,325 \pm 0,01$ >0,05	$0,263 \pm 0,06$ >0,05
Лобная кора $M \pm m$ P	$1,19 \pm 0,07$	$0,95 \pm 0,06$ <0,05	$1,032 \pm 0,05$ =0,1	$0,21 \pm 0,002$	$0,085 \pm 0,02$ <0,01	$0,13 \pm 0,02$ <0,001
Спинной мозг $M \pm m$ P				$0,313 \pm 0,01$	$0,019 \pm 0,00$ <0,001	$0,195 \pm 0,01$ >0,02

Во всех сериях средние величины выведены из данных 6-ти опытов.

типа А угнетался хлоргидрином, типа В—депренилом, таким образом, оба типа ферментов отвечают за обмен аминов, и он может быть избирательно блокирован при введении соответствующих ингибиторов. Форма А—специфична для серотонина, форма В—для β-фенилэтиламина. L-норадреналин, тирамин, дофамин и триптамин являются общими суб-

Таблица 2
Активность MAO в различных отделах ЦНС, ед. акт/мл гомогената

З о н ы	Контроль	4-й день	14-й день
Кора $M \pm m$ P	$22,5 \pm 1,13$	$25,78 \pm 0,67$ <0,05	$22,46 \pm 0,83$ >0,05
Гипоталамус $M \pm m$ P	$23,0 \pm 1,07$	$27,2 \pm 1,36$ <0,05	$26,8 \pm 1,65$ >0,05
Ствол $M \pm m$ P	$21,6 \pm 1,13$	$25,0 \pm 0,77$ <0,05	$23,6 \pm 1,34$ >0,05
Спинной мозг $M \pm m$ P	$7,18 \pm 0,096$	$8,5 \pm 0,77$ >0,05	$7,7 \pm 0,38$ >0,05

Во всех сериях опытов средние величины выведены из 5-ти опытов, для каждого опыта использована мозговая ткань, полученная от 4-х крыс.

стратами для обеих форм. Однако при помощи гель-фильтрации и фокусированного электрофореза как в присутствии ионных детергентов, так и в их отсутствие не удалось разделить эти формы. В то же время сульфгидрильные ингибиторы, LiCl, NaCl, додецилсульфат натрия, длительная инкубация при 37° снижали активность формы А, но не В. Уот и Глассман [21] заключают, что разные формы MAO являются, вероят-

при экспериментальном гипопаратиреозе, мкг/г ткани

Адреналин			Серотонин		
контроль	4-й день	14-й день	контроль	4-й день	14-й день
$0,076 \pm 0,003$	$0,053 \pm 0,01$ $>0,02$	$0,035 \pm 0,01$ $>0,02$	$0,88 \pm 0,03$	$0,429 \pm 0,05$ $<0,001$	$0,6 \pm 0,05$ $<0,005$
$0,052 \pm 0,01$	$0,06 \pm 0,01$ $>0,05$	$0,019 \pm 0,001$ $>0,02$	$0,915 \pm 0,03$	$0,436 \pm 0,05$ $<0,001$	$0,835 \pm 0,07$ $>0,2$
$0,018 \pm 0,00$	$0,015 \pm 0,00$ $>0,05$	$0,026 \pm 0,00$ $>0,05$	$0,687 \pm 0,03$	$0,295 \pm 0,02$ $<0,001$	$0,57 \pm 0,03$ $<0,05$
$0,061 \pm 0,01$	$0,013 \pm 0,01$ $>0,05$	$0,021 \pm 0,01$ $<0,02$			

но, частью большого макромолекулярного комплекса, включенного в митохондриальную мембрану, А-форма которого в большей степени зависит от липидных компонентов мембраны, чем В-форма. Выявленное нами значительное уменьшение количества адреналина и норадреналина в гипоталамической области и норадреналина в лобной коре на 14-й день гипопаратиреоза, когда активность МАО в этих отделах мозга приближается к норме, а также отсутствие достоверных изменений активности МАО в спинном мозге говорят либо о предпочтительном окислении этих моноаминов МАО типа А, либо о вовлечении и других механизмов, ведущих к понижению содержания моноаминов. В условиях гипопаратиреоза уменьшение концентрации Ca^{++} в крови, наиболее выраженное на 4—5-й день эксперимента, может привести к понижению уровня цАМФ в нервной ткани, так как аденилциклазная активность контролируется ионами кальция [8]. При внутривенном введении паратормона здоровым людям обнаружено повышение концентрации цАМФ в плазме крови [13]. Понижение уровня цАМФ может быть обусловлено и недостаточным содержанием паратормона в организме в связи с тем, что паратормон активирует аденилциклазу в эффекторных клетках и увеличивает концентрацию цАМФ, который, в свою очередь, увеличивает концентрацию свободного Ca^{++} в клетке путем стимулирования скорости высвобождения кальция из митохондрий [7]. В регуляции биосинтеза катехоламинов в пресинаптической терминали участвует цАМФ-зависимая протеинкиназа. Показано, что цАМФ активирует тирозингидроксилазу, дофамин- β -гидроксилазу [10, 22], лимитирующие скорость биосинтеза катехоламинов в нервной ткани. цАМФ и протеинкиназа влияют и на микротубулярную систему посредством фосфорилирования белков нейротубулулов и нейрофиламентов, обеспечивающих секрецию медиатора при повышении активности Ca^{++} ,

Mg⁺⁺-зависимой АТФазы синаптических пузырьков [12, 17]. Исследованиями Крыжановского [3] обнаружено, что столбнячный токсин, нарушающий секрецию медиаторов, способен связываться с нейростенином мозга, угнетать Ca⁺⁺—Mg⁺⁺-АТФазу. Эти факты дают основание полагать, что при гипопаратиреозе могут нарушаться синтез, высвобождение, а также резервирование медиатора в комплексе АТФ-Mg⁺⁺ (Ca⁺⁺), вследствие чего медиатор разрушается МАО в везикулах или цитоплазме. Однако нельзя исключить возможности понижения активности АТФаз синаптических мембран при гипопаратиреозе, ведущего к подавлению нейронального и везикулярного захвата моноаминов [18, 19], в этих условиях медиатор либо инактивируется в синаптической щели катехоламин-0-метилтрансферазой, либо в случае нарушения везикулярного захвата и комплексирования медиатора в синаптических пузырьках подвергается окислительному дезаминированию в цитоплазме. Установлено, что ацетальдегид и биогенные альдегиды, образующиеся при окислительном дезаминировании биогенных аминов, тормозят действие активируемых Na⁺, K⁺ и Mg⁺⁺-АТФаз синапсом мозга [16].

Понижением уровня биогенных аминов можно объяснить и механизм развития судорожного синдрома при гипопаратиреозе. Исследования с применением резерпина, истощающего гранулярные запасы катехоламинов и серотонина, и α -метилтирозина—ингибитора тирозингидроксилазы служат доказательством участия биогенных аминов в возникновении и регуляции судорожных состояний. Повышение чувствительности к судорожным воздействиям идет параллельно со снижением уровня всех биогенных аминов мозга [6, 11]. В обзоре Арушаняна [1] приводятся доказательства того, что моноамины—серотонин, норадреналин и дофамин—могут выступать в роли тормозных медиаторов для ряда центральных путей регуляции движений, как нисходящих цереброспинальных путей, так и восходящей нигростриатной системы. Исследованиями Блюма [15] на клетках мозжечка обнаружено сходство гиперполяризационных ответов, вызываемых норадреналином и цАМФ. Оба соединения, в отличие от глицина и γ -аминомасляной кислоты, не увеличивают ионную проводимость мембраны, сопротивление ее скорее возрастает. Выдвинуто предположение о том, что тормозные спинальные адренергические эффекты могут осуществляться через цАМФ-зависимое фосфорилирование белков постсинаптической мембраны [1].

Таким образом, уменьшение содержания моноаминов в ЦНС, установленное нами при гипопаратиреозе, может привести к снижению уровня цАМФ постсинаптической мембраны, цАМФ-зависимого фосфорилирования, что может обусловить возникновение эффекта понижения тормозных процессов в спинном мозге паратиреопривных крыс, развитие судорожного синдрома, показанного нами ранее [4].

Ереванский государственный медицинский институт, ЦНИЛ

Поступило 25.VI 1980 г.

ՄԵՐՈՏՈՆԻՆԻ, ԿԱՏԵԽՈԼԱՄԻՆԵՐԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎ
ՄՈՆՈԱՄԻՆՕՔՍԻԴԱՋԱՅԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ԿԵՆՏՐՈՆԱԿԱՆ ՆՅԱՐԴԱՅԻՆ
ՀԱՄԱԿԱՐԴԻ ՏԱՐԲԵՐ ԲԱԺԻՆՆԵՐՈՒՄ, ՀԱՐՎԱՀԱՆԱԳԵՂՋԵՐԻ
ԹԵՐՑՈՒՆԿՅԵԱՅԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Դ. Ն. ԽՈՒԴԱՎԵՐԴՅԱՆ, Ն. Ռ. ԱԶԳԱԼԴՅԱՆ Գ. Գ. ԲԱԿՈՒՆՏ

Փորձարարական թերհարվածանագեղձության պայմաններում ուսումնասիրվել է սերոտոնինի, դոֆամինի, նորադրենալինի, ադրենալինի պարունակությունը և մոնոամինօքսիդազայի ակտիվությունը (ՄԱՕ) մեծ կիսագնդերի ճակատային բլթում, ենթատեսաթմբում, ուղեղաբնում և ողնուղեղում: Նկատվել է մոնոամինների պարունակության իջեցում և ՄԱՕ-ի ակտիվության բարձրացում ուղեղի վերոհիշյալ հատվածներում՝ հետազոտության բոլոր ժամկետներում:

SEROTONINE, CATECHOLAMINES CONTENT AND
MONOAMINOXIDASE ACTIVITY IN DIFFERENT PARTS
OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM UNDER INSUFFICIENCY
OF PARATHYROID GLAND FUNCTION

D. N. KHUDAVERDYAN, N. R. AZGALDYAN G. G. BAKUNTS

Serotonin, dopamine, noradrenaline content and monoaminoxidase (MAO) activity have been studied in the bigs semispheres frontal lobe cortex hypothalamus, truncus, spinal cord under experimental hypoparathyreosis. The decrease of monoamine content and the increase of monoaminoxidase activity in all the brain parts have been shown.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арушанян Э. Б. Успехи физиол. наук, 6, 4, 100—123, 1975.
2. Брусова Л. В., Вьюгова Л. А., Горкин В. З. Укр. биох. журн., 37, 1, 463, 1965.
3. Крыжановский Г. Н., Поздняков О. М., Полгар А. А. Патология синаптического аппарата мышцы, М., 1974.
4. Худавердян Д. Н., Григорян В. З. Докл. Академии наук СССР, 246, 3, 753—755, 1979.
5. Ansell G. B., Besson M. F. Analytical Biochem., 23, 2, 196, 1968.
6. Azzaro A. J., Wenger G. B., Gralg C. R. et al. J. Pharmacol. and exp. Ther., 180, 558—568, 1972.
7. Borle A. B. In.: Calcium, Parathyroid Hormone and the Calcitonins. Amsterdam 484—491. 1972.
8. Hungen von K., Roberts S. Eur. J. Biochem., 36, 2, 391—401, 1973.
9. Yang H.—Y. T., N2ff N. II. J. Pharmacol. and Exp. Ther., 189, 3, 733—740, 1974.
10. Kopin I. J. J. Psychiat. Res., 11, 335—338, 1974.
11. Laguzzi R. F., Acevedo C., Tzguierdo J. A. Arzneimittel-Forsch., 20, 1904—1911 1970.
12. La Raia P. J., Morkin E. Circ. Res., 35, 298, 1974.
13. Lewin I. G., Herdy G. N., Papapoulos S. E., Tomlinson S., O'Riordan J. L. H. Calcified Tissues, 1976, Leeds, 332, 1977.
14. Rasmussen H., Tenenhouse A. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 59, 1364—1370, 1968.

15. *Siggins R., Oliver A. P., Hoffer B. J., Bloom F. E.* Science, 171, 192—194, 1971.
16. *Tabakoff B.* Res. Comm. Chem. Pathol. Pharm., 7, 621—624, 1974.
17. *Tada M., Kirchberger M. A., Katz A. M.* J. Biol. Chem., 250, 2640, 1975.
18. *Tatyanenko L. V. et al.* Biochim. biophys. acta, 242, 23, 1971.
19. *Taugner G.* Arch. Pharmacol., 274, 299, 1972.
20. *Udenfriend S., Weissbach H., Clark C. J.* Biol. Chem., 215, 337, 1955.
21. *White H. L., Glassman Ann. T. J.* Neurochem., 29, 6, 987—997, 1977.;
22. *Wooten G. F., Thoa N. B. et al.* Molec. Pharmacol., 9, 178, 1973.
23. *Zeller E. A., Buerki H. R., Ischimazu I.* Fed. Proc., 21, 271, 1962.