

17. Hecht R., Thielman H. *Europ. J. Biochem.*, 89, 607, 1978.
18. Heflich R. H., Mahoney-Leo E., Maher V. and McCormick J. J. *Photochem. and Photobiolog.*, 30, 247, 1979.
19. Heppel L. A. *Science*, 123, 415, 1956.
20. Kaplan I. C., Kushner S. R. and Grossman L. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 63, 144, 1969.
21. Kasal K. and Grunberg-Manago M. *Europ. J. Biochem.*, 1, 152, 1967.
22. Kroeker W. D., Hanson D. M. *J. Biol. Chem.*, 250, 3767, 1975.
23. Lee S. Y. *Biochim. Biophys. acta*, 151, 126, 1968.
24. Ljungquist S., Lindahl T. *J. Biol. Chem.*, 249, 1530, 1974.
25. Nakao Y., Lee S. Y., Halvorson H. O. and Bock R. M. *Biochim. et Biophys. acta*, 151, 114, 1968.
26. Ohtaka Y., Uchida K., Sakai T. *J. Biochem.*, 54, 322, 1963.
27. Sato K. and Egami F. *J. Biochem.*, 44, 753, Tokyo, 1957.
28. Shank T. E., Rhodes C., Rigby P. W. I., Berg P. *Progr. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 72, 989, 1975.
29. Shishido K. *Agr. and Biol. Chem.*, 43, 1093, 1979.
30. Stevens A. and Hilnoe R. J. *J. Biol. Chem.*, 235, 3016, 1960.
31. Strauss B., Robbins M. *Biochim. et Biophys. acta*, 161, 68, 1968.
32. Sutton W. D. *Biochim. et Biophys. acta*, 240, 522, 1971.
33. Temin H. M. and Mizutani S. *Nature*, 226, 1211, 1970.
34. Vogt V. M. *Europ. J. Biochem.*, 33, 192, 1973.
35. Vort V. M. *Meth. Enzymol. Nucl. Acids*, 65, 1, 248, 1980.
36. Waldeck W. *Biochim. et Biophys. acta*, 425, 157, 1976.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 8, 1982

УДК 591.1.15

СОДЕРЖАНИЕ КАТЕХОЛАМИНОВ И АКТИВНОСТЬ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ В СИНАПТОСОМАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ ЦНС

Л. А. СТЕПАНЯН

Исследовались сдвиги в содержании норадреналина и адреналина и активность моноаминоксидазы в синапсосомах головного мозга при естественных физиологических воздействиях. При пищевом и условнорефлекторном пищевом возбуждении отмечается увеличение количества норадреналина и адреналина и понижение активности фермента. Условнорефлекторное пищевое торможение вызывает снижение содержания норадреналина и активности фермента.

Ключевые слова: катехоламины, моноаминоксидаза, синапсосомы.

В числе актуальных проблем современной биохимии и фармакологии ЦНС вопрос о роли центральных норадренергических структур занимает особое место. Данные о влиянии катехоламинов на поведение, выработку условных рефлексов, о количественных сдвигах катехоламинов при различных функциональных состояниях ЦНС противоречивы и спорны [2, 11]. Предполагается, что адренергические синапсы вовле-

каются в процессы образования и сохранения памятного следа. В этих процессах большую роль могут играть не только суммарное содержание биогенных аминов, но и соотносительные уровни их и скорость обмена.

Ранее нами были выявлены значительные сдвиги в содержании дофамина, норадреналина, адреналина, серотонина и гистамина и изменение активности моноаминоксидазы (МАО) в целом мозге и его различных отделах в условиях естественных физиологических воздействий [8,9]. Для выяснения причин мобилизации, связывания и обмена трансмиттеров адренергической природы в субклеточных частицах мозга при различных функциональных состояниях необходимо было изучить содержание норадреналина и адреналина в синаптосомах головного мозга при естественных физиологических воздействиях. Исходя из этого, мы исследовали содержание норадреналина и адреналина, а также активность МАО (амин:кислород оксидоредуктаза (дезаминирующая, содержащая флавин); КФ 1. 4. 3. 4) в синаптосомах.

Материал и методика. Исследования были проведены на белых крысах-самцах массой 150—180 г в четырех сериях. Первая серия—контроль; у крыс, использованных во второй серии, вырабатывали пищевое возбуждение, в третьей серии опытов вызывали условнорефлекторное возбуждение, а в четвертой—внутреннее торможение методом угашения. Подопытных животных замораживали в жидком азоте в требуемый момент функциональной активности мозга в условнорефлекторной камере УРК-66. Синаптосомы выделяли по методу Маршбанка [13]. После осаждения ядер при 1000 g надосадочную жидкость центрифугировали на центрифуге УАС—601 при 18000 g. Выпавшие в осадок «грубые» митохондрии гомогенизировали в 0,7 М растворе сахарозы и центрифугировали в течение двух часов при 60000 g. Осажденные митохондрии гомогенизировали в 1,2 М растворе сахарозы и центрифугировали два часа при 60000 g. Надосадочную жидкость разводили в 3,75 раза и центрифугировали 30 мин при 30000 g, в осадок выпадали синаптосомы. Катехоламины определяли по методике Крута [9]. Активность МАО определяли по методике Горкина и сотр. [1], основанной на том, что при окислительном дезаминировании п-нитрофенилэтиламина образуется окрашенное вещество с максимумом поглощения при 420—450 мкм. За единицу активности фермента принимали количество его, вызывающее увеличение оптической плотности на 0,001 за 1 мин, отнесенное к 1 мг белка. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре с термостатируемым кюветодержателем при 37°.

Результаты и обсуждение. Данные о сдвигах в содержании норадреналина приведены в табл. 1, из которой видно, что выработанные функциональные состояния вызывали значительные изменения в содержании исследуемых нами катехоламинов. Содержание норадреналина при пищевом возбуждении достоверно повышается; условнорефлекторное возбуждение также вызывает его повышение, между тем как условнорефлекторное торможение сопровождается снижением этого показателя как в целом мозге, так и в синаптосомах. Большой интерес представляют результаты, касающиеся сдвигов в содержании адреналина в синаптосомах мозга при различных функциональных состояниях (табл. 2).

Эти данные интересны в том отношении, что в доступной нам литературе мы не нашли сведений о наличии адреналина в синаптосомах головного мозга. При пищевом и условнорефлекторном пищевом воз-

Таблица 1

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

Средние данные	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
σ		±0,014	±0,03	±0,022
P		<0,01	<0,05	<0,05

Таблица 2

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

Средние данные	Контроль	Пищевое возбуждение	Условнорефлекторное пищевое возбуждение	Условнорефлекторное пищевое торможение
M±	0,024±0,003	0,034±0,001	0,034±0,001	0,029±0,001
n	12	9	7	6
σ		±0,001	±0,001	±0,007
P		<0,001	<0,001	>0,05

буждении нами выявлено повышение его содержания в синапсосамах. При выработанном торможении заметных сдвигов по сравнению с контролем не обнаружено.

В инактивировании катехоламинов ведущую роль играют два процесса: окислительное дезаминирование моноаминов и O-метилирование. Роль MAO в обмене биогенных аминов-нейромедиаторов не вызывает сомнений. Нужно отметить, что относительно инактивации катехоламинов в синаптической щели есть разные точки зрения. Одни авторы считают, что MAO инактивирует медиаторы в пресинаптической области и поддерживает физиологический уровень их в пресинаптическом окончании нервного волокна, и в этом заключается основная функция фермента в процессе медиации нервного импульса, а катехол-O-метилтрансфераза (КОМТ) инактивирует в синаптической щели [15]. По мнению других, инактивирования катехоламинов в синаптической щели не происходит, так как КОМТ является внутриклеточным ферментом, не локализуется на внешней стороне постсинаптической мембраны [3]; в адренергических синапсах в инактивировании медиаторов большую роль играет обратный захват пресинаптическими окончаниями [12].

На фоне выявленных нами сдвигов в содержании норадреналина и адреналина представляло интерес проследить за изменением активности MAO в синапсосах мозга. Результаты этих исследований приведены в табл. 3.

Активность MAO в синапсосах мозга в контроле составляет $10,4 \pm 0,248$ единиц ферментной активности. Данные о соотношении активности MAO в синапсосах и в целом мозге в исследованиях Гле-

Активность MAO в синапсосамах головного мозга при различных функциональных состояниях, единица активности/мг белка

Средние данные	Контроль	Пищевое возбуждение	Условнорефлекторное пищевое возбуждение	Условнорефлекторное пищевое торможение
M±	10,4±0,248	7,32±0,543	7,57±0,612	7,59±0,432
n	7	4	4	5
s		±1,086	±1,225	±0,97
p		<0,01	<0,02	<0,01

бова и др. [4] совпадают с нашими. В наших исследованиях установлено, что при пищевом возбуждении имеет место понижение активности фермента, что сопровождается повышением количества норадреналина и адреналина в синапсосамах мозга.

Условнорефлекторное пищевое возбуждение также вызывает понижение активности фермента, что сопровождается повышением количества норадреналина и адреналина. Аналогичная картина отмечалась и при условном торможении, хотя при этом количество норадреналина снижалось, а содержание адреналина оставалось без изменений.

Таким образом, при условном торможении мы не отмечали зависимости между активностью MAO и сдвигами в содержании норадреналина и адреналина. В экспериментах по определению активности диаминооксидазы в головном мозге при различных функциональных состояниях (данные, которые еще не опубликованы) имело место понижение активности фермента как при возбуждении, так и при торможении ЦНС. И в этом случае мы не отмечали связи между сдвигами в содержании гистамина и изменением активности диаминооксидазы. Определение сдвигов в содержании норадреналина и адреналина и активности MAO в разных отделах мозга при различных функциональных состояниях также показали, что угнетение активности MAO не всегда сопровождается накоплением катехоламинов, а в некоторых случаях количество их даже понижается. В других исследованиях нашей лаборатории, посвященных определению активности MAO в мозговой ткани при терминальных состояниях и в восстановительном периоде после оживления организма в динамике, были обнаружены значительные изменения активности фермента. И здесь не было отмечено соответствия между изменением активности фермента и сдвигами в содержании моноаминов [7].

Чем же можно объяснить сдвиги в содержании норадреналина и адреналина в синапсосамах головного мозга? Можно предположить, что при этих состояниях меняется также активность КОМТ, как как при различных функциональных состояниях возможно «переключение» обмена катехоламинов с одного пути на другой [10]. Не исключено, что сдвиги в содержании норадреналина и адреналина были вызваны также изменением активности ферментных систем, ответственных за их синтез (изучение их является в настоящее время нашей задачей). Воз-

можно, при возбуждении ЦНС становятся определяемыми такие формы норадреналина и адреналина, которые в мозге контрольных животных не определяются.

МАО, регулирующая уровень медиаторов в нервных структурах, играет важную роль в разных функциях нервной системы. В настоящее время установлено, что МАО представляет собой не один фермент с широкой субстратной специфичностью, а набор родственных, отличающихся относительно узкой субстратной специфичностью и поддающихся препаративному разделению структурно связанных МАО [14]. С помощью избирательного блокирования фермента ингибиторами было показано, что в гомогенатах мозга имеются две формы его—А и Б.

Юдин и сотр. показали, что в различных областях головного мозга человека МАО имеет различную субстратную специфичность [14,15]. Данные о субстратной специфичности и чувствительности к действию ингибиторов различных форм МАО указывают на существование в пределах типов А и Б целого ряда подтипов, различающихся, в частности, по сродству к O_2 [6]. Особенности кинетики окисления серотонина и тирамина митохондриальной МАО указывают на возможное проявление этим ферментом кооперативных свойств в момент связывания субстратов, что характерно для аллостерических ферментов. Предложена новая модель строения и функционирования «встроенной» в биомембрану МАО, учитывающая изменение свойств этого фермента при воздействии на митохондриальную мембрану. В предложенной модели самой митохондриальной мембране, в которую «вмонтирована» МАО, отводится активная регуляторная роль [5]. Можно предположить, что при различных функциональных состояниях имеют место также конформационные изменения в структуре мембран, которые вызывают изменения фермента.

Ереванский государственный
медицинский институт,
лаборатория биосинтетических реакций мозга

Поступило 18.II 1981 г.

**ԿԱՏԵՆՈՎԱՄԻՆԵՐԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎ ՄՈՆՈԱՄԻՆՈՔՍԻԴԱԶՍԻ
ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ԳԼԽՈՒՂԵՂԻ ՍԻՆԱՊՏՈՍՈՄԵՐՈՒՄ ԿՆՀ ՏԱՐԲԵՐ
ՖՈՒՆԿՑԻՈՆԱԿՎԻՃԱԿՆԵՐՈՒՄ**

Լ. Չ. ՄՏԲՍԵՅԱՆ

Ուսումնասիրվել են նորադրենալինի, ադրենալինի քանակական տեղաշարժերը և մոնոամինօքսիդազայի ակտիվությունը սպիտակ առնետների դիսուդեզի սինապտոսոմներում բնական, ֆիզիոլոգիական զրգռիչների ազդեցության տակ:

Հետադրոստոլյունները ցույց են տվել, որ սննդային և պայմանական սննդային զրգման ժամանակ սինապտոսոմներում ավելանում է նորադրենալինի և ադրենալինի քանակը և իջնում է ֆերմենտի ակտիվությունը: Պայմանական սննդային արգելակման ժամանակ սինապտոսոմներում պակասում է նորադրենալինի պարունակությունը, իսկ ադրենալինի քանակը չի փոխվում: Ֆերմենտի ակտիվությունն այդ վիճակում նույնպես նվազում է: