

УДК 577.16/17+612.43/45

## КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕРТОНИНА И КАТЕХОЛАМИНОВ В МОЗГЕ ПРИ ДЕЙСТВИИ ПУРИНСОДЕРЖАЩИХ ЦИКЛИЧЕСКИХ НУКЛЕОТИДОВ И НУКЛЕОЗИДОВ

Г. С. ХАЧАТРЯН, Г. Г. БАКУНЦ

Показано, что внутрикостеральное введение 2',3'-АМР вызывает снижение содержания норадреналина и дофамина в мозге на 15-й и 30-й мин исследования. Выявлено идентичность влияния аденозина и 3',5'-АМР на содержание серотонина и катехоламинов в мозге. Гуанозин и 3',5'-ГМР вызывают сходные сдвиги в содержании серотонина и катехоламинов. Аденозин приводит к снижению содержания серотонина и увеличению количества норадреналина, дофамина. Интенсивность действия аденозина выше таковой 3',5'-АМР: цГМР и гуанозин повышают содержание серотонина и снижают содержание катехоламинов.

*Ключевые слова:* нуклеотиды циклические, нуклеозиды, серотонин, катехоламины.

В основе интегративной деятельности сложных нейронных систем лежат процессы регуляции прямых и обратных синаптических связей. В последние годы выдвигаются различные гипотезы о возможной роли циклических нуклеотидов в регуляции процессов деполяризации и гиперполяризации постсинаптической мембраны. Физиологический эффект влияния циклических нуклеотидов и их метаболизм в организме тесно связаны с действием катехоламинов, серотонина, нуклеозидов и других физиологически активных веществ, активирующих циклазные реакции и стимулирующих образование циклических нуклеотидов на постсинаптической мембране. Это приводит, согласно результатам исследований Грингарда [13], к изменениям ионной проницаемости и трансмембранной проводимости. В регуляции уровня циклических нуклеотидов в клетке определенную роль играют и нуклеозиды [10, 21—23, 27]. Процесс синаптической передачи обусловлен возможностью саморегуляции синапса, основанной как на прямой, так и на обратной связях при секреции медиатора. Исходя из вышесказанного, мы поставили задачу изучить биохимические механизмы обратной связи—действие внутрикостерально (и/ц) введенных пуринсодержащих циклических нуклеотидов и нуклеозидов на содержание нейромедиаторов в мозге.

В предыдущих исследованиях, посвященных изучению закономерностей действия циклического 3',5'-АМР на содержание серотонина, норадреналина и дофамина в мозге, было показано, что при введении его внутрикостерально в концентрации 0.15 мкМ/150 г массы крысы происходит снижение содержания серотонина на 5-й мин и увеличение количества норадреналина и дофамина на 5-й, 15-й и 30-й мин исследо-

вания [5]. В развитие этих исследований мы изучали действие других пуринсодержащих циклических нуклеотидов, аденозина и гуанозина на содержание серотонина и катехоламинов в мозге.

**Материал и методика.** Исследования проводили на белых крысах-самцах массой 150—200 г. Циклические нуклеотиды и нуклеозиды (фирмы «Sigma», США) вводили и/ц и концентрациях 0,15 и 0,30 мкМ/150 г массы животного. Подопытных животных замораживали в жидком азоте для фиксации биохимических сдвигов и мозга.

Серотонин определяли в одной пробе мозговой ткани вместе с норадреналином и дофамином спектрофотометрическим методом Юденфренда [25] в описании Ансела и Бисона [7]. Мозговую ткань гомогенизировали в кислом бутаноле. После экстракции моноаминов их переводили в водную фазу, затем добавляли 2 М уксуснокислый натрий, после чего катехоламины адсорбировали на окиси алюминия. Дальнейшее определение серотонина и катехоламинов проводили раздельно. Для определения серотонина проводили щелочную экстракцию бутанолом в боратном буфере, pH 10, затем серотонин переводили в фосфатный буфер, pH 7, добавляли ингибиторы и грели в водяном термостате при 75° 30 мин. Затем пробы оставляли при комнатной температуре в течение одного часа, при этом развивалась флуоресценция ингибиторного производного серотонина. Пик возбуждения серотонина—385 мкм, пик флуоресценции—495 мкм. Катехоламины элюировали с окиси алюминия 0,25 М уксусной кислотой, pH элюата доводили до 6,5. Окисление проводили триоксипиридоловым методом. В качестве окислителя применяли йод. Пики возбуждения норадреналина и дофамина соответствовали 385 и 320 мкм, а пики флуоресценции—485 и 370 мкм.

**Результаты и обсуждение.** Результаты опытов показывают (табл. 1), что циклический 2',3'-АМР, в отличие от 3',5'-АМР, повышающего содержание катехоламинов, вызывает снижение их содержания в мозге. На каком этапе биосинтеза катехоламинов проявляется ингибирующее действие 2',3'-АМР, остается пока невыясненным.

Таблица 1

Содержание серотонина и катехоламинов в мозге при в/в введении 2',3'-АМР в концентрации 0,15 мкМ/150 г массы крысы, мкг/г ткани

| Моноамины    | Средние<br>данные          | Контроль               | 15-я мин                         | 30-я мин                         |
|--------------|----------------------------|------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Серотонин    | $M \pm m$<br>$\frac{n}{p}$ | $0,693 \pm 0,013$<br>6 | $0,674 \pm 0,011$<br>6<br><0,4   | $0,725 \pm 0,031$<br>6<br><0,4   |
| Норадреналин | $M \pm m$<br>$\frac{n}{p}$ | $0,193 \pm 0,016$<br>6 | $0,193 \pm 0,01$<br>6<br><0,001  | $0,285 \pm 0,034$<br>6<br><0,025 |
| Дофамин      | $M \pm m$<br>$\frac{n}{p}$ | $1,387 \pm 0,019$<br>6 | $0,602 \pm 0,018$<br>6<br><0,001 | $1,09 \pm 0,092$<br>6<br><0,025  |

В настоящее время известны многочисленные факторы, изменяющие содержание норадреналина, освобождаемого при нервной стимуляции. 3',5'-АМР, ингибиторы фосфодиэстеразы, агонисты  $\beta$ -адренорецепторов и ангиотензин способны усилить пресинаптическое освобождение норадреналина. Агонисты  $\alpha$ -адренорецепторов, холинергические муокардиновые агонисты, простагландины группы Е, опиаты, энкефалины, напротив, ингибируют этот процесс [26]. По нашим данным, к числу ингибиторов выделения норадреналина можно отнести и 2',3'-АМР. На основании наших и литературных данных можно допустить,

что 3',5'-АМР повышает, а 2',3'-АМР подавляет биосинтез и высвобождение норадреналина и дофамина.

Анализ литературных данных и работ лаборатории биосинтетических реакций мозга Ереванского медицинского института по изучению нуклеинового обмена показывает, что циклический 3',5'-ГМР по своим биохимическим и физиологическим эффектам почти всегда выступает в качестве антагониста 3',5'-АМР [3, 4]. Холинергические агонисты и циклический дибутрил-цГМР подавляют индуцированное норадреналином накопление цАМР в коре головного мозга. Стимулирующее действие норадреналина на накопление цАМР подавляется холинергическими агонистами в сочетании с ацетилхолином и холинхлоридом. Содержание цГМР в срезах коры головного мозга не изменяется под действием норадреналина и увеличивается под действием карбохола [19].

Нами установлено (табл. 2), что на 15-й мин после в/ц введения 3',5'-ГМР содержание серотонина в мозге достоверно повышается, оста-

Таблица 2

Содержание серотонина и катехоламинов в мозге при в/ц введении 3',5'-ГМР в концентрации 0,15 мкМ/150 г массы крысы, мкг/г ткани

| Моноамины    | Средние данные      | Контроль               | 15-я мин                         | 30-я мин                         |
|--------------|---------------------|------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Серотонин    | $M \pm m$<br>п<br>р | $0,693 \pm 0,018$<br>б | $0,918 \pm 0,018$<br>б<br><0,001 | $0,768 \pm 0,021$<br>б<br><0,005 |
| Норадреналин | $M \pm m$<br>п<br>р | $0,396 \pm 0,016$<br>б | $0,147 \pm 0,002$<br>б<br><0,001 | $0,237 \pm 0,016$<br>б<br><0,001 |
| Дофамин      | $M \pm m$<br>п<br>р | $1,387 \pm 0,019$<br>б | $0,965 \pm 0,041$<br>б<br><0,001 | $1,251 \pm 0,026$<br>б<br>0,005  |

ется повышенным и на 30-й минуте. Количество норадреналина понижается более чем в два раза, оно снижено и на 30-й мин после введения цГМР в концентрациях 0,15 и 0,30 мкМ/150 г массы. Введение цГМР вызывает аналогичное, но менее выраженное изменение уровня дофамина в мозге. Таким образом, 3',5'-АМР стимулирует накопление катехоламинов в мозге, а 3',5'-ГМР подавляет их образование и способствует увеличению содержания серотонина.

В литературе обсуждается роль 3',5'-АМР в регуляции постсинаптического потенциала и механизм ингибирующего действия аденозина на постсинаптический потенциал. Доказано наличие мембранных рецепторов аденозина, сопряженных с аденилатциклазой [8]. Аденозин и другие пуринсодержащие соединения понижают амплитуду постсинаптических потенциалов в срезах обонятельной области коры мозга морской свинки, не влияя на потенциал пресинаптического волокна. Теофиллин (ингибитор фосфодиэстеразы) снижает эффект аденозина и аденилатов на постсинаптический потенциал [18].

Для раскрытия механизмов действия циклических нуклеотидов мы изучали влияние нуклеозидов—аденозина и гуанозина—на количественную характеристику серотонина, норадреналина и дофамина в мозге.

Выявлено, что аденозин вызывает достоверное снижение содержания серотонина в мозге на 15-й и 30-й мин после в/ц введения, при этом максимальное снижение отмечается на 15-й мин (табл. 3). Содержание

Таблица 3

Содержание серотонина и катехоламинов в мозге при в/ц введении аденозина, мкг/г ткани

| Моноамины    | Средние данные             | Контроль               | 15-я мин                         | 30-я мин                         | 30-я мин                         |
|--------------|----------------------------|------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
|              |                            |                        | 0,15 мкМ аденозина               | 0,15 мкМ аденозина               | 0,30 мкМ аденозина               |
| Серотонин    | $M \pm m$<br>$\frac{n}{p}$ | $0,693 \pm 0,018$<br>6 | $0,305 \pm 0,012$<br>6<br><0,001 | $0,465 \pm 0,021$<br>6<br><0,001 | $0,515 \pm 0,014$<br>6<br><0,001 |
| Норадреналин | $M \pm m$<br>$\frac{n}{p}$ | $0,395 \pm 0,016$<br>6 | $0,517 \pm 0,019$<br>6<br><0,001 | $0,495 \pm 0,011$<br>6<br><0,001 | $0,823 \pm 0,046$<br>6<br><0,001 |
| Дофамин      | $M \pm m$<br>$\frac{n}{p}$ | $1,387 \pm 0,019$<br>6 | $1,78 \pm 0,165$<br>8<br><0,05   | $1,53 \pm 0,057$<br>8<br><0,05   |                                  |

норадреналина и дофамина в мозге повышается на 15-й и 30-й мин. Удвоенная концентрация нуклеозида на 30-й мин вызывает увеличение содержания норадреналина более чем в два раза. Сравнение действия 3',5'-АМР и аденозина обнаруживает одинаковую направленность их влияния на содержание серотонина и катехоламинов, при этом эффект аденозина интенсивнее эффекта 3',5'-АМР. Введение гуанозина вызывает уменьшение количества серотонина на 15-й мин исследования, уменьшение его на 30-й мин оказываются недостоверным (табл. 4). Однократно удвоенная концентрация нуклеозида (0,30 мкМ/150 г массы) на

Таблица 4

Содержание серотонина и катехоламинов в мозге при в/ц введении гуанозина, мкг/г ткани

| Моноамины    | Средние данные             | Контроль               | 15-я мин                         | 30-я мин                         | 30-я мин                         |
|--------------|----------------------------|------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
|              |                            |                        | 0,15 мкМ гуанозина               | 0,15 мкМ гуанозина               | 0,30 мкМ гуанозина               |
| Серотонин    | $M \pm m$<br>$\frac{n}{p}$ | $0,693 \pm 0,018$<br>6 | $0,575 \pm 0,014$<br>4<br><0,001 | $0,627 \pm 0,009$<br>6<br><0,2   | $0,767 \pm 0,011$<br>6<br><0,005 |
| Норадреналин | $M \pm m$<br>$\frac{n}{p}$ | $0,395 \pm 0,016$<br>6 | $0,313 \pm 0,012$<br>6<br>>0,5   | $0,50 \pm 0,016$<br>6<br><0,005  | $0,28 \pm 0,016$<br>6<br><0,001  |
| Дофамин      | $M \pm m$<br>$\frac{n}{p}$ | $1,387 \pm 0,019$<br>6 | $1,07 \pm 0,016$<br>6<br><0,001  | $0,873 \pm 0,035$<br>6<br><0,001 |                                  |

30-й мин увеличивает количество серотонина в мозге, содержание норадреналина и дофамина при этом достоверно снижается. В концентрации 0,15 мкМ/150 г массы гуанозин не вызывает изменений в содержании норадреналина на 15-й мин, однако на 30-й мин оно повышает

ется. Содержание дофамина снижается на 30-й мин после введения удвоенной концентрации гуанозина. Из данных наших исследований следует, что действие гуанозина, за редким исключением, идентично действию 3',5'-ГМР. Таким образом, установлена противоположная направленность действия 3',5'-АМР и аденозина, с одной стороны, 3',5'-ГМР и гуанозина — с другой, на метаболизм серотонина и катехоламинов в мозге.

При обсуждении возможных механизмов действия циклических нуклеотидов важны данные, указывающие на то, что 3',5'-АМР непосредственно или через соответствующие рецепторы включается в механизм высвобождения катехоламинов. Работами Лангера [16, 17] показано, что агенты, ингибирующие фосфодиэстеразу, подобно напаверину и дилиридамолу, увеличивают высвобождение норадреналина при стимуляции нерва в мигательной перепонке кошки. В мозговой части надпочечников высвобождение катехоламинов вызывается ингибированием фосфодиэстеразы [20]. Аналогичные данные получены в отношении теofilлина — ингибитора фосфодиэстеразы и дибутгирил-цАМР в *vas deferens* морской свинки. Однако, по-видимому, цАМР не включается в регуляторный механизм, осуществляемый посредством пресинаптических  $\alpha$ -адренорецепторов по принципу отрицательной обратной связи, так как антагонисты  $\alpha$ -адренорецепторов фентоламин и феноксимбензамин не изменяют высвобождения нейромедиаторов, стимулируемого аналогами цАМР или ингибиторами фосфодиэстеразы [17], а включается в механизм пресинаптической регуляции высвобождения нейромедиаторов через положительную обратную связь, осуществляемую при активации  $\beta$ -адренорецепторов [6]. При этом возникают реакции, приводящие к образованию активатора тирозингидроксилазы, который в присутствии  $\text{Ca}^{2+}$  повышает активность тирозингидроксилазы, что способствует биосинтезу нейромедиатора [24]. Наши эксперименты выявили идентичность действия аденозина и 3',5'-АМР, а также гуанозина и 3',5'-ГМР на количественные сдвиги серотонина и катехоламинов в мозге. Действие 3',5'-АМР и 3',5'-ГМР может осуществляться посредством рецепторного воздействия аденозина и гуанозина, образующихся соответственно из 3',5'-АМР и 3',5'-ГМР. Стимулирующее влияние аденозина на активность аденилатциклазы и накопление 3',5'-АМР в различных тканях организма животных отмечено в исследованиях многих авторов. Накопление цАМР под влиянием аденозина обусловлено как положительным его действием на аденилатциклазу, так и использованием аденозина в синтезе 3',5'-АМР. Увеличение количества норадреналина и дофамина на 15-й мин исследования можно объяснить вовлечением циклического нуклеотида в качестве положительного модулятора в активирование тирозингидроксилазы. Возможно, увеличение концентрации 3',5'-АМР сопровождается снижением содержания цГМР, увеличение соотношения цАМР/цГМР может индуцировать синтез тирозингидроксилазы. Кроме того, оно может контролировать активность протенинкиназ, фосфорилирующих белки, что может стимулировать биосинтез тирозингидроксилазы или предотвращать ее деструкцию [9]. Анализ работ последних лет [1, 2, 4, 12] свидетель-

ствуеі о наличии в клетке множества контролирующих ее функцию систем, из которых две ведущие уже фактически обоснованы и результате открытия двух нажных универсальных регуляторов: 3',5'-АМР и 3',5'-ГМР. Соотношение концентраций цАМР/цГМР оказывает влияние на клеточную активность, осуществляя двойной контроль регуляции [3, 11, 12]. Нами установлено, что отношение концентраций аденозин/гуанозин, 3',5'-АМР/3',5'-ГМР также осуществляет двойной контроль регуляции метаболизма моноаминов мозга

Ереванский государственный медицинский институт,  
лаборатория биосинтетических реакций мозга, ЦНИИ

Получено 5.III 1983 г.

**ՍԵՐՈՏՈՆԻՆԻ ԵՎ ԿԱՏԵԽՈԼԱՄԻՆՆԵՐԻ ՔԱՆԱԿԱԿԱՆ ՌԵՈՒԹԱԳԻՐՆ  
ՈՒԼԵՂՈՄ ՊՈՒՐԻՆ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՎ ՑԻԿԼԻԿ ՆՈՒԿԼԵՈՏԻԴՆԵՐԻ  
ԵՎ ՆՈՒԿԼԵՈԶԻԴՆԵՐԻ ԱԶԻՑՅՈՒԹՅԱՆ ԴԵՊԶՈՒՄ**

Գ. Ս. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ, Դ. Դ. ԲԱԿՈՒՆՏ

Ցույց է տրված, որ ցիկլիկ 2', 3'—ԱՄՖ-ի ներցիստերնալ ներարկումն ուղեղում առաջացնում է նորադրենալինի և դոֆամինի քանակի իջեցում՝ հետազոտման 15 և 30 րոպեներին: Ի հայտ է բերված ադրենալինի և 3', 5'—ԱՄՖ-ի, ինչպես նաև դուանոզինի և 3', 5'—ԳՄՖ-ի նմանատիպ ազդեցությունը սերոտոնինի և կատեխոլամինների քանակական տեղաշարժերի վրա: Ադենոզինի ներարկումն առաջ է բերում սերոտոնինի քանակի իջեցում և նորադրենալինի ու դոֆամինի քանակի ավելացում ուղեղում: Ադենոզինն իր ազդեցության ինտենսիվությամբ դերազանցում է 3', 5'—ԱՄՖ-ին: ԳՄՖ-ը և դուանոզինը բարձրացնում են սերոտոնինի քանակը և իջեցնում կատեխոլամինների քանակն ուղեղում:

**THE QUANTITATIVE CHARACTERISTICS OF SEROTONINE  
AND CATECHOLAMINES IN THE BRAIN UNDER THE EFFECT  
OF PURINE CONTAINING CYCLIC NUCLEOTIDES  
AND NUCLEOSIDES**

G. S. KHACHATRIAN, G. G. BAKUNTS

It has been shown that the intracisternal injection of 2' 3'-AMP after 15 and 30 min. decreases the noradrenaline and dopamine content in the brain. An identity of the effect of the injected adenosine and 3', 5'-AMP on the changes of the content of serotonin and catecholamines in the brain has been revealed. Guanosine and 3', 5'-GMP cause identical changes in the amount of serotonin and catecholamines. Adenosine decreases the content of serotonin and increases the amount of noradrenaline and dopamine in the brain. The influence of adenosine is more effective than that of 3', 5'-AMP. 3', 5'-GMP and guanosine increase the content of serotonin and decrease the content of catecholamines in the brain.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Дорощев Г. Н., Кожмякин Л. А., Ивашкин В. Т. Циклические нуклеотиды и адаптация организма. Л., 1978.
2. Сенерин Е. С., Гуляев Н. Н., Васильев В. Ю. IV Всесоюз. биохим. съезд. Тез. симп. докл. 88, Л., 1979.
3. Хачатрян Г. С. В сб.: Циклические нуклеотиды, 73, М., 1979.
4. Хачатрян Г. С. Биохимия пуриновых кислот и психические функции головного мозга, Ереван, 1981.
5. Хачатрян Г. С., Бакунц Г. Г. Биолог. ж. Армении, 23, 8, 948, 1980.
6. Aller—Graschinsky E., Langer S. Z. Brit. J. Pharmacol., 53, 43, 1975.
7. Ansell G. B., Beeson M. F. Analytical Biochem., 23, 2, 196, 1968.
8. Bonnafant J.—C., Dornand J., Mann J.—C. FEBS Lett., 108, 1, 305, 1979.
9. Costa E., Guldotti A., Hanbauer I. Life Sci., 14, 7, 1169, 1974.
10. Fredholm B. H. Med., Biol., 57, 5, 1977.
11. Goldberg N. D., Haddox M. K., Dunham E., Lopez C., Hadden J. W. Control, Proliferat. Anim. Cells. Gold Spring Harbor Conf. Cell Proliferat., 1, 609, 1974.
12. Goldberg N. D., Haddox M. K. Ann. Rev. Biochem., 46, 823, 1977.
13. Greengard P. Protein phosphorylat. Contn. Mech., New York—London, 145, 1973.
14. Greengard P. Nature, 260, 101, 1976.
15. Greengard P. Ions—Cyclic Nuct. cholinergy. Proc. 7th Int. Congr. Pharmacol. Oxford, 231, 1979.
16. Langer S. Z. Front. Catecholamine Res., Proc. Int. Catecholamine Symp., 543, 1973.
17. Langer S. Z. Biochem Pharmacol., 23, 13, 1793, 1974.
18. Okada Y., Kuroda Y. Eur. J. Pharmacol., 61, 2, 147, 1980.
19. Palmer G. G., Chronister R. B., Palmer S. J. Neurosci., 5, 2, 319, 1980.
20. Polesner A. M. Biochem. Pharmacol., 22, 4, 469, 1973.
21. Pons F., Bruns R. F., Daly J. W. J. Neurochem., 31, 5, 1319, 1980.
22. Premont J., Ferez M., Bockaert J. Mol., Pharmacol., 13, 4, 662, 1977.
23. Roch P., Salamin A. Experientia, 32, 11, 1419, 1976.
24. Salzman P. M., Roth R. H. Progr. Neurobiol., 13, 1, 1979.
25. Udenfriend S., Weissbach H., Clark C. J. J. Biol. Chem., 215, 337, 1955.
26. Weiner N. Fed. Proc., 38, 8, 2193, 1979.
27. Weissman B. A. Arch. Pharmacol., 302, 3, 307, 1978.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVII, № 1, 1984

ЗДК 612.922 2822 3.822.6

## ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ О ДИНАМИЧЕСКОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ ФУНКЦИЙ В КОРЕ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Т. Г. УРГАНДЖЯН, К. В. ЦАКАНЯН, Н. А. МЕЦОЯН

Методом вызванных первичных ответов исследованы особенности изменения, локализации и амплитудно-временных характеристик фокальных потенциалов в корковых зонах разных анализаторов и ассоциативной области на раздражение контралатеральной лучевого нерва спустя 6—8 месяцев после экстирпации соматосенсорной коры с одной стороны. Показано расширение зон регистрации фокальных потенциалов после завершения внутримозговой перестройки не только в соматосенсорной коре интактного полушария, но и в других корковых зонах анализаторов. Скрытые периоды возникновения фокальных потенциалов, их сходство и конфигурации в соматосенсорной, зри-