

СОДЕРЖАНИЕ СЕРОТОНИНА В КРОВИ ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОПАРАТИРЕОЗЕ

Г. Г. БАКУНЦ, Д. И. ХУДАВЕРДЯН

Ереванский государственный медицинский институт, ЦНИЛ,
кафедра физиологии

Выявлено повышение содержания серотонина на 4-й и 30-й дни после паратиреоидэктомии и снижение его уровня на 14-й день исследования

Բացահայտված է սերոտոնի կի բանակի — 4-րդ և 30-րդ օրերի հարվածանորոգիչների թվաքանակի հետև 4-րդ և 30-րդ օրերին և նրա բանակի նվազում 14-րդ օրը

An increase in the serotonin content at the 4th and 30th days after the parathyroidectomy and a decrease in it's level at the 14th day of research was revealed.

Серотонин—гипопаратиреоз—Ca²⁺

В последние годы появились данные об участии паратиреоидного гормона и его антагониста кальцитонина в регуляции стресса. Повышение тонуса симпатической нервной системы усиливает секреторную активность паращитовидных желез. Возрастание концентрации глюкокортикоидов при стрессе увеличивает степень гиперкальциемии, при этом изменяется уровень серотонина в отделах мозга и в крови, в связи с чем последний рассматривается как физиологически активное вещество, участвующее, наряду с катехоламинами и ацетилхолином, в формировании адаптационного синдрома [4, 13, 15].

При напряженных состояниях организма, сопровождающихся усилением нейрональной активности, снижается содержание нейромедиаторов в мозге. Оно компенсируется аминами крови, поступающими из хромаффинной ткани надпочечников, кишечника и периферических окончаний симпатических нервов [1].

Исследованиями Пауменко, Месса, Вермеса и Телегди [8, 14, 18] доказано, что серотонинергическая система гипоталамуса оказывает подавляющее влияние на нейроэндокринную регуляцию функций переднего гипофиза. Снижение содержания гипоталамического серотонина при усилении процессов деполяризации в ЦНС высвобождает гипоталамус из-под серотонинергического торможения и способствует секреции АКТГ.

Ранее нами было выявлено значительное снижение содержания моноаминов в гипоталамусе на 4-й день после удаления паращитовидных желез, при этом снижение уровня серотонина составляло 51,3% относительно контроля [10]. Для всестороннего раскрытия роли моноаминов в патогенезе гипопаратиреоза, а также роли паратиреоидного гормона в развитии стресса необходимо было исследовать взаимосвязи между моноаминами мозга и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системой. Морфофункциональное изучение хромаффинной ткани

надпочечников при недостаточности функции паращитовидных желез [3] показало выраженное функциональное напряжение этих органов, являющихся реализующим звеном гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. В свете приведенных данных представляло также интерес изучение содержания серотонина в крови в различные сроки экспериментального гипопаратиреоза.

Материал и методика. Опыты ставили на белых крысах-самцах массой 120—150 г, у которых под фирным наркозом электрокоагуляцией удалили паращитовидные железы. Кровь брали путем декапитации животных. О степени разноречия паращитовидной недостаточности судили по содержанию кальция в плазме крови, определенного фотометрически. Содержание серотонина в крови изучали у контрольных и паратиреопривных крыс на 4-, 14- и 30-й дни после удаления паращитовидных желез.

Содержание серотонина в плазме крови определяли спектрофлуориметрическим методом Юденичева в модификации Сидера и соавт. [17]. Макропробу, Левина [7]. Кровь собирали в полиэтиленовую пробирку с гепарином и центрифугировали при 1000 об/мин. К 2 мл плазмы приливали 3 мл 20% -й ТХУ и центрифугировали. pH водосодержащей жидкости доводили до 9,0 добавлением безводного Na_2CO_3 , затем в ней добавляли 0,2 мл 0,5 М боратного буфера (pH 10), 1,5 г NaCl и 15 мл бутанола, встряхивали 10 мин и центрифугировали. Бутаноловую фазу повторно промывали в обратном буфере, т.е. к 10 мл органической фазы приливали 15 мл изобутана и 1,1 мл 0,05 М фосфатного буфера (pH 7,0), встряхивали 3 мин и центрифугировали. Органическую фазу удаляли, а в водной фазе приливали 0,1 мл 0,1 М нацтария, пробирку нагревали в водяном термостате при 75° в течение 30 мин, охлаждали и оставляли при комнатной температуре в течение часа. Измерение флуоресценции проводили на электрофлуориметре марки «Хитачи MPF-4», (Япония), пик возбуждения и флуоресценции соответственно составляли 365 и 495 мкм.

Результаты и обсуждение. Данные наших опытов, представленные в таблице, показывают фазовые сдвиги в содержании серотонина крови при гипопаратиреозе, которое возрастает втрое на 4-й день после удаления паращитовидных желез. При этом отмечается наибольшее снижение концентрации Ca^{2+} , составляющее 53% по отношению к контролю. На 14-й день содержание серотонина несколько снижается и повторно повышается на 30-й день наблюдений. На 14-й день он достоверно превышает контрольный уровень.

Анализируя механизмы и источники повышения содержания серотонина в плазме крови необходимо отметить, что уровень моноамина

Содержание серотонина в плазме крови при экспериментальном гипопаратиреозе, мкг/мл крови

	Контроль	4-й день	14-й день	30-й день
$M \pm m$	$0,0122 \pm 0,0018$	$0,0393 \pm 0,005$	$0,0205 \pm 0,002$	$0,0451 \pm 0,005$
P		$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,001$

в плазме отражает интенсивность двух процессов: синтеза и высвобождения (или из энтерохромаффинных и тучных клеток, поступления в кровь и депоирования тромбоцитами, а также высвобождения моноамина из тромбоцитов под действием нервного импульса и физиологически активных веществ.

Для определения биохимической и физиологической значимости выявленных сдвигов в патогенезе гипопаратиреоза, в формировании адаптационного синдрома в условиях снижения концентраций паратиреоидного гормона, цАМФ и Ca^{2+} в крови представляют интерес данные литературы о механизмах действия серотонина в организме человека и животных. Серотонин рассматривают как регулятор кровяного давления, фактор роста, медиатор центральной и периферической нервной систем, модулятор внутриклеточного обмена. Он обладает гемостатическим, анафилактическим и противолучевым действием, стимулирует функцию коркового слоя надпочечников, половых желез, выделение антидиуретического гормона. Одним из наиболее специфических проявлений действия серотонина является его нейромедиаторное действие в ЦНС, а также в миелинервальных синапсах гладкой мускулатуры в сосудистой и других чувствительных к серотонину системах организма [5]. Имеются данные о влиянии серотонина на проницаемость клеточных мембран. Он увеличивает выход ионов натрия и калия из эритроцитов и кожи лягушки, уменьшает выход калия из эритроцитов человека [16]. Установлено, что *in vivo* серотонин активирует проникновение $^{45}\text{Ca}^{2+}$ в срезы мозга и гладкомышечных органов, а также в липидный слой бесклеточных систем [20]. В этой связи выяснение особенностей функционирования механизмов, связанных с обменом кальция, и регулирования их серотонином представляет большой интерес. Исследованиями Курского и Федорова [6] выявлено, что после связывания кальция, содержащегося в полоске мышцы матки, с помощью ЭДТА серотонин не вызывает сокращения мышцы. Последующее внесение в инкубационную среду Ca^{2+} или отмывание ЭДТА восстанавливает эффект серотонина. Значительное повышение концентрации Ca^{2+} в инкубационной среде также вызывает сокращение мышцы, но действие его наступает значительно позже, чем в присутствии серотонина. Внутриинтестинальное или внутривенное введение серотонина, способствуя транспорту кальция в клетку и повышению его внутриклеточного уровня, вместе с тем снижает его содержание в митохондриях, микросомах и повышает в синапсосомах и растворимой фракции мозга. Для выяснения механизма действия серотонина этими авторами были проведены опыты, в которых субклеточные фракции «нагружали» радиоактивным кальцием и инкубировали в бескальциевой среде. Внесение в среду серотонина стимулировало выход Ca^{45} из митохондриальной и микросомной фракций мозга, а также из микросомной фракции мышцы матки, не влияло на этот процесс в митохондриях мышцы матки и тормозило его в синапсосомах мозга. Авторы приходят к выводу, что влияние серотонина на поступление, перераспределение и выход кальция определяется изменением функционального состояния мембран различных клеточных структур, связанным с синаптической передачей и сокращением мышц, и направлено на обеспечение этих процессов.

Действие серотонина на перераспределение иона Ca^{2+} между различными внутриклеточными структурами, возможно, опосредуется кальмодулином, играющим важную роль в синаптических процессах.

При возбуждении, когда концентрация Ca^{2+} в клетке достигает 10^{-6} М и выше, ионы Ca^{2+} связываются с белком кальмодулином и образуют комплекс, активирующий ряд кальцийзависимых ферментов (триптофангидроксилазу, катализирующую биосинтез серотонина) и некоторые процессы: регуляцию сборки и разборки сократительных белков, секрецию медиаторов и гормонов, активный транспорт Ca^{2+} [2].

Таким образом, по приведенным данным [6], действие серотонина обусловлено его специфическим влиянием на трансмембранное перемещение ионов Ca^{2+} , серотонин стимулирует включение Ca^{2+} в чувствительные к нему ткани *in vitro*. Методом флуоресцентного зонда в нашей лаборатории обнаружено достоверное увеличение содержания Ca^{2+} в митохондриальной фракции печени на 5-й день и в митохондриальной фракции мозга на 12-й день экспериментального гипопаратиреоза [11] в условиях гиперсеротонинемии и снижения концентрации Ca^{2+} , цАМФ и паратиреоидного гормона в крови.

В основе биохимического механизма действия серотонина лежит его способность к образованию комплексов с переносом заряда, к увеличению внутриклеточной концентрации ионов кальция и цАМФ [5]. Циркулируя в крови, он активирует аденилатциклазу и увеличивает содержание внутриклеточного цАМФ, что приводит к конформационной перестройке мембраны и повышению пассивного транспорта Ca^{2+} в клетку, а также увеличению концентрации внутриклеточного Ca^{2+} в результате высвобождения его из комплексов с АТФ.

Циркулирующий в крови серотонин взаимодействует с хеморецепторами каротидного клубочка и других областей, рефлексы с которых усиливают функцию гипофиза. Возникающее при этом возбуждение поступает по афферентным нервам к ядрам гипоталамуса и опережает прямое действие серотонина на секрецию АКТГ-релизинг-фактора [9] и высвобождение АКТГ, способствующего синтезу серотонина в энтерохромаффинных клетках кишечника и в мозге [12].

Обобщение результатов наших исследований и данных литературы позволяет заключить, что снижение содержания серотонина в гипоталамусе приводит к активации функции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и повышению уровня серотонина в крови, направленному на развитие компенсаторно-приспособительных реакций организма при гипопаратиреозе. Серотонин повышает транспорт Ca^{2+} в клетку и увеличивает его внутриклеточное содержание, что важно для нормализации синаптической передачи, нарушенной при синдроме паратиреоидной тетании. В свете вышесказанного представляется необходимым дальнейшее исследование содержания Ca^{2+} в субклеточных фракциях мозга и мышцы, а также регуляции серотонином кальмодулинзависимых процессов в различные сроки гипопаратиреоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бару А. М., Рагим М. С. Физiol. ж. СССР, 60, 6, 972, 1974.
2. Глебов Р. Н., Крыжиновский Г. Н. Вестн. АМН СССР, 3, 63, 1983.

3. Довлатян Р. А. В кн.: Физиология и патология околощитовидных желез. Ереван, 1983.
4. Држевецкая Н. А., Мишина Н. Ф., Лиманский П. Н. В кн.: Гистогематические барьеры и нейрогуморальная регуляция. М., 1981.
5. Курский М. Д., Бакшеев Н. С. В кн.: Биохимические основы механизма действия серотонина. Киев, 1974.
6. Курский М. Д., Федоров А. А. Укр. биохим. ж. 43, 1, 110, 1971.
7. Макаров А. Ю., Левин Э. А. Лаб. дело, 12, 722, 1967.
8. Науменко Е. В. В кн.: Центральная регуляция гипофизарно-надпочечникового комплекса. Л., 1971.
9. Пидевин Н. Н. В кн.: Фармакология серотонинореактивных структур. М., 1977.
10. Худавердян Д. Н., Азгалдян Н. Р., Бакуни Г. Г. Биол. ж. Армении, 31, 8, 824, 1981.
11. Худавердян Д. Н., Арицини Г. Г., Гер-Маркосян А. С., Овсепян Р. С. Бюлл. экпер. биол. и мед., XCVII, 3, 257, 1984.
12. Azmitia E. C., McEwen B. S. I. Neurochem., 27, 3, 773, 1976.
13. Carzla R. V., Segre G. V., Clark I., Malamed S. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 167, 3, 402, 1981.
14. Meiss B. Results in Neurochem., Neuroendocrinol., Neurophysiol. and Behaviour Neuropharmacol., Neuropathol., Cybern. Budapest, Acad. kiado, 9, 1976.
15. Miline R., Stern P., Hukovic S. Experientia, 14, 415, 1958.
16. Pickles V. R. J. Physiol., 138, 195, 1967.
17. Snyder S. H., Axelrod J., Zisely M. Biochem. Pharmacol., 11, 841, 1965.
18. Vermes I., Telegdy G. Results in Neurochem., Neuroendocrinol., Neurophysiol. and Behaviour Neuropharmacol., Neuropathol., Cybern. Budapest, Acad. kiado, 25, 1976.
19. Wells H., Lloyd W. Endocrinology, 84, 84, 861, 1969.
20. Woolley D. W., Gomml B. W. Arch. Internat. Pharmacodyn. et Therap., 159, 8, 1966.

Поступило 20 X 1987 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 7, 1988 г.

УДК 615.2+612.015.32:616.46—001.1/3

АКТИВНОСТЬ Na^+-K^+ АТФазы МИКРОСОМНОЙ ФРАКЦИИ МОЗГА И МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОСТРОМ И ПОВТОРЯЕМОМ СТРЕССЕ

Э. М. МИКАЕЛЯН, А. Л. ШАЛДЖЯН

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра биологической химии

При остром и повторяемом стрессе активируется индуцированное ПОЛ в микросомах мозга и эритроцитарных мембранах, растет уровень диеновых конъюгатов, подавляется активность СОД, модифицируется количественный и качественный состав липидной фазы мембран. Na^+-K^+ АТФаза эритроцитарных мембран активируется (исключение составляют показатели при 7-разовой иммобилизации), в микросомах мозга она активируется при 1- и 5-разовой иммобилизации и ингибируется при 3-, 4-, 6- и 7-разовой. Непосредственная зависимость между интенсивностью ПОЛ и активностью Na^+-K^+ АТФазы не установлена.

Сокращения: ПОЛ—перекисное окисление липидов; ИМО—иммобилизация; НЭП—НАДФН зависимое; АЗП—аскорбатзависимое; МДА—малоновый диальдегид; ФС—фосфатидилсерин; КФЛ—кислые фосфолипиды; НФЛ—нейтральные фосфолипиды; СОД—супероксиддисмутаза; ЛФХ—лизофосфатидилхолин.