



КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 612.822.1.

ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ДЕЛЬТА-СОН ИНДУЦИРУЮЩЕГО ПЕПТИДА И СИСТЕМА ГАМК В МОЗГУ КРЫС

МЕНДЖЕРИЦКИЙ А. М., УСКОВА Н. И., ЧОРАЯН И. О., *МИХАЛЕВА И. И.

НИИ нейрокибернетики, кафедра биохимии РГУ

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина АН СССР

Изучено влияние внутрибрюшинно введенного дельта-сон индуцирующего пептида (ДСИП) на содержание гомокарнозина, ГАМК, глутаминовой и аспарагиновой кислот в различные сроки после его введения.

Обнаружено, что ДСИП вызывает увеличение содержания тормозных медиаторов и уменьшение содержания возбуждающих медиаторов, что сопровождается изменением активности ферментов их обмена.

Показано, что ДСИП обладает выраженным хронобиологическим действием.

В последние годы широко изучаются физиологические и биохимические эффекты пептида, который, как предполагали, является гуморальным фактором сна [1]. Его введение животным индуцировало в коре мозга медленно-волновую низкочастотную дельта-активность, что и определило его название дельта-сон индуцирующий пептид (ДСИП).

Более поздние исследования показали, что ДСИП обладает уникальным действием на функции и метаболизм мозга и всего организма животного. Особенно значимо, что эффект ДСИП проявляется в большой степени, когда животное находится в экстремальных или стрессовых условиях и продолжается в течение многих часов или дней после его однократного введения. ДСИП проявляет выраженное антистрессорное действие [2].

Предполагают, что ДСИП является модулятором нейромедиаторных систем. Одни авторы считают, что его действие реализуется через β -рецепторы адренергической системы [3]. Ряд работ свидетельствует о влиянии ДСИП на серотонинергические нейроны [4]. ДСИП изменяет активность МАО типа А [4]. Введение триптофана потенцирует индуцируемый ДСИП дельта-ритм [5].

Развивающаяся под действием ДСИП медленно-волновая дельта-активность мозга заставляет предположить его влияние на тормозные медиаторные системы мозга. Такие работы до сих пор не проведены. Главной тормозной системой мозга является ГАМК-ергическая [6]. Кроме того, получены доказательства тормозных эффектов гомокарнозина [7].

Мы исследовали состояние системы ГАМК и содержание гомокарнозина в мозгу крыс в разные сроки после введения ДСИП. В

ферментной системе синтеза и превращения ГАМК циркулируют две трансмиссерные аминокислоты—глутаминовая и аспарагиновая, которым присущи свойства возбуждающих медиаторов. Поэтому, принимая это исследование, мы сделали попытку определить соотношение тормозных и возбуждающих нейротрансмиссерных аминокислот мозга при действии ДСИП.

Материалы и методы

Опыты проводили на белых беспородных крысах массой 150—180 г. В процессе эксперимента животных делили на 7 групп. Первая группа состояла из интактных животных. Животным 2—7-й групп за 1, 2, 3, 7 ч. 1 и 3 суток до декапитации, соответственно, внутривенно вводили пептид дельта-сна в дозе 12 мкг на 100 г массы животного [8].

В мозгу крыс определяли содержание ГАМК и активность ферментов ее метаболизма: глутамат-1-декарбоксилазы (ГДК; КФ 4.1.1.16), 4-аминобутират-2-оксоглутаратаминоотрансферазы (ГАМК-Т-I; КФ 2.6.1.19), 4-аминобутират-2-оксоацетатаминоотрансферазы (ГАМК-Т-II; КФ 2.6.1.10). Содержание ГАМК, глутаминовой и аспарагиновой кислот определяли методом электрофореза на бумаге [9]. Об активности ГДК, ГАМК-Т-I и ГАМК-Т-II судили по накоплению конечных продуктов реакции—ГАМК, глутаминовой и аспарагиновой кислот соответственно. Результаты выражали в мкМ образованной аминокислоты на 1 г ткани. Содержание гомокарнозина определяли методом Young, Snyder [10] в модификации Бондаренко и Макленовой [11]. Результаты выражали в нмоль на 1 г ткани.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 приведены результаты определения содержания ГАМК, гомокарнозина, глутаминовой и аспарагиновой кислот в мозгу крыс в разные сроки после введения ДСИП.

Из данных табл. 1 видно, что содержание ГАМК в мозгу крыс после введения ДСИП сохраняется на уровне контроля в первые 2 ч, а к 7-и ч возрастает на 37,8%. Содержание гомокарнозина, напротив, резко (на 58,4%) возрастает уже через 1 ч после введения ДСИП, затем постепенно снижается, но через 7 ч остается на 22,1% выше, чем в мозгу контрольных животных. Содержание глутаминовой кислоты через 1 ч после введения ДСИП—на уровне контроля, через 2 ч снижается на 28,1% и продолжает снижаться. К 7-и ч снижение составляет 37,4%. Содержание аспарагиновой кислоты под действием ДСИП не изменяется в течение 7-и ч после введения ДСИП. Эффект ДСИП, по-видимому, зависит от способа введения. Ранее нами показано, что при интерцестеральном введении ДСИП уже через 1 ч содержание ГАМК в коре и подкорковых структурах мозга крыс значительно возрастает [12]. ДСИП хорошо проходит через ГЭБ [3]. Несмотря на это, при его внутривенном введении влияние ДСИП на содержание ГАМК и глутамата проявляется только через определенное время, тогда как содержание гомокарнозина возрастает сразу после введения ДСИП. Связано это может быть с разной локализацией этих соединений в структурах и субклеточных фракциях мозга.

Через сутки после введения ДСИП содержание ГАМК в мозгу увеличивается на 30%, через 3 суток наблюдается дальнейшее повы-

Таблица 1

Содержание нейротрансмиттерных аминокислот и гомокарнозина в мозгу крыс после введения ДСИП ($M \pm m$, $n=6-10$; содержание аминокислот—мкмоль/г ткани, гомокарнозин—нмоль/г ткани)

	Контроль	1 ч	2 ч	3 ч	7 ч	1 суток	3 суток
ГАМК	$2,07 \pm 0,06$	$2,10 \pm 0,18$	$2,21 \pm 0,09$	$2,35 \pm 0,11^*$	$2,85 \pm 0,12^*$	$2,69 \pm 0,17^*$	$3,22 \pm 0,21^*$
Гомокарнозин	$63,73 \pm 4,28$	$100,96 \pm 3,76$	$88,62 \pm 2,50$	$80,69 \pm 3,73^*$	$77,84 \pm 4,96^*$	$5,35 \pm 0,35^*$	$60,67 \pm 2,46^{**}$
Глутамат	$7,79 \pm 0,36$	$7,46 \pm 0,40$	$5,60 \pm 0,21^*$	$5,43 \pm 0,25^*$	$4,88 \pm 0,10^*$	$5,35 \pm 0,35^*$	$6,94 \pm 0,32$
Аспартат	$2,30 \pm 0,13$	$2,13 \pm 0,24$	$2,10 \pm 0,11$	$2,41 \pm 0,25$	$2,63 \pm 0,11$	$2,76 \pm 0,03^*$	$2,35 \pm 0,12^*$

Примечание. *—достоверность различий по отношению к контролю $p < 0,05 \div 0,001$, **—[8].

Таблица 2

Активность ферментов системы ГАМК в мозгу крыс после введения ДСНП ($M \pm m$, $n=6-10$; мкмоль ГАМК/г ткани за 20 мин, мкмоль глутамата/г ткани за 40 мин, мкмоль аспартата/г ткани за 40 мин)

	Контроль	1 ч	2 ч	3 ч	7 ч	1 сутки	3 суток
ГДК	1.83 ± 0.05	1.82 ± 0.02	$1.66 \pm 0.05^*$	2.09 ± 0.12	1.95 ± 0.12	$1.59 \pm 0.10^*$	2.01 ± 0.23
ГАМК-Т-1	2.52 ± 0.10	2.28 ± 0.04	$2.08 \pm 0.12^*$	$2.00 \pm 0.11^*$	$1.89 \pm 0.10^*$	2.90 ± 0.25	2.63 ± 0.30
ГАМК-Т-2	1.99 ± 0.12	1.61 ± 0.35	1.75 ± 0.11	1.82 ± 0.19	1.72 ± 0.16	$1.58 \pm 0.08^*$	1.62 ± 0.13

Примечание. *—достоверность различий по отношению к контролю $p < 0.05$.

шение уровня ГАМК—на 55,6% по сравнению с контролем и на 23,4% по сравнению с сутками после введения. Параллельно повышению уровня ГАМК наблюдается и повышение уровня глутамата: через сутки после введения ДСИП содержание глутаминовой кислоты на 6,1% выше, чем через 7 ч, но на 31,3% ниже контроля; через 3 суток наблюдается дальнейшее повышение уровня глутамата.

Таким образом, после введения ДСИП крысам в мозг создаются условия для развития тормозного процесса. При внутрибрюшинном введении ДСИП уже в первые два часа тормозные процессы поддерживаются высоким содержанием гомокарнозина и значительно сниженным содержанием глутамата. Через 7 ч—тормозные процессы, видимо, усиливаются, так как повышен уровень как ГАМК, так и гомокарнозина, а концентрация глутамата значительно снижена. Полученные результаты хорошо согласуются с данными электрофизиологических исследований. Так, Schoenenberg, Schneider-Helmert [13] при периферическом введении кроликам ДСИП через 1 ч наблюдали увеличение дельта-активности в ЭКГ, которая сохранялась до 7-го ч эксперимента. Максимум достигался через 3—4 ч. Аналогичный эффект наблюдали Kafi и соавт. при периферическом введении ДСИП крысам [14].

Каковы возможные причины изменения содержания нейромедиаторных аминокислот при действии ДСИП? Исследована активность ферментов системы ГАМК—ГДК и двух трансаминаз—ГАМК-Т-I (субстрат оксоглутарат) и ГАМК-Т-II (субстрат оксалоацетат).

Из табл. 2 видно, что активность ферментов синтеза и превращения ГАМК—ГДК и трансаминаз существенно не изменяется. Активность ГАМК-Т-I снижается после 2, 3 и 7 ч после введения ДСИП на 17,5%, 20,6% и 25% соответственно. Такая динамика активности ГАМК-Т-I при практически неизменной активности ГДК имеет прямое отношение к уровню глутамата. Его содержание в мозгу через 2—7 ч после введения ДСИП снижается соответственно на 28,2—37,4%. Можно предположить, что в этот период ДСИП стимулирует использование глутамата путями, несвязанными с синтезом ГАМК. В работе Бондаренко и соавт. показано, что в мозгу после введения ДСИП возрастает содержание белка. Пока ничего не известно о влиянии ДСИП на биоэнергетику мозга и использовании глутамата как предшественника оксоглутарата в ЦТК.

При неизменной активности ГДК содержание ГАМК остается постоянным до 7 ч после введения ДСИП. Через 7 ч ее содержание повышается на 37,8%. Источником ГАМК, кроме глутамата, при стабильной активности ГДК, может быть путресцин. Ранее этот путь синтеза ГАМК был нами изучен [15]. Считают, что ГАМК, синтезированная из путресцина, расходуется на синтез гомокарнозина. Как показано в табл. 1, содержание гомокарнозина через 7 ч после введения ДСИП на 36,3% ниже по сравнению с 1 ч после введения. По данным Крупенинковой, уровень гомокарнозина в мозгу через 3 суток после введения ДСИП не отличается от контроля [8].

Таким образом, на примере системы ГАМК и содержания гомокарнозина показано, что введение ДСИП моделирует во времени развитие состояния торможения, максимум которого выявляется через 7 ч и 3 суток после введения пептида. Вероятно, что этот эффект определяет адаптогенные свойства ДСИП.

CHRONOBIOLOGICAL EFFECT OF δ -SLEEP-INDUCING PEPTIDE AND GABA SYSTEM IN RAT BRAIN

MENDZHERITSKII A. M., *USKOVA N. I., CHORAYAN I. O., **MIKHAILEVA I. I.

Institute of Neurocybernetics, Rostov

*Rostov State University

**N.N. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry,
USSR Academy of Sciences, Moscow

We studied the effect of intraperitoneally administered δ -sleep-inducing peptide on the level of homocarnosine, GABA, glutamic and aspartic acids at different periods after DSIP administration. DSIP leads to an increased level of the inhibitory transmitters and decreases the level of excitatory transmitters, which is accompanied by alterations in the activity of enzymes of their metabolism. It has been demonstrated that DSIP possesses a distinct chronobiological effect.

ЛИТЕРАТУРА

1. Monnier M., Dabier A., Gaehler R. *Shoenenberg S. A.* *Neurosci. Lett.*, v. 6, p. 9-13, 1977.
2. Меерсон Ф. З., Заяц М. Г., Пчельникова М. Г., Божко А. П. *Кардиология*, т. 25, с. 84-88, 1988.
3. Graf M. V., Kastin A. J. *Feeder*, v. 7, p. 1165-1187, 1986.
4. Доведова Е. Л., Лихарин И. П. *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, т. 2, с. 56-58, 1982.
5. Yehuda S., Mostofsky D. *Int. J. Neurosci.*, v. 16, № 3-4, p. 221-224, 1982.
6. Сытинский П. А. Гамма-аминомасляная кислота—медиатор торможения. Л., Наука, 1977.
7. Кричевская А. А., Бондаренко Т. И., Маклецова М. Г. *Нейрохимия*, т. 4, № 3, с. 314-326, 1985.
8. Менджерицкий А. М., Маклецова М. Г., Карпухина И. Ю. *Нейрохимия*, т. 6, № 3, с. 422-425, 1987.
9. Tapia R. *Handbook of Neurochem.* v. 3, p. 423-465, 1983.
10. Joung A. B., Snyder S. H. *J. Neurochem.*, v. 21, № 2, p. 387-396, 1973.
11. Бондаренко Т. И., Маклецова М. Г. *Лаб. дело*, № 2, с. 204-206, 1982.
12. Менджерицкий А. М., Ускова Н. И., Чораян И. О. *Нейрохимия*, т. 7, № 2, с. 312-313, 1988.
13. Shoenenberg G. A., Schneider-Helmert A. *Trends Pharm. Sci.*, v. 4, p. 307-310, 1983.
14. Kafi S., Monnier M., Gallard M. *Neurosci. Lett.*, v. 13, 169-172, 1979.
15. Ускова Н. И. Метаболизм гомокарнозина в мозге в онтогенезе и при действии экстремальных факторов на крыс. Автореферат канд. дис., Ростов-на-Дону, 1986 г.

Поступила 2.II.1990