

УДК 591.18:575

АКТИВНОСТЬ ТРИПТОФАНГИДРОКСИЛАЗЫ В ГОЛОВНОМ МОЗГУ МЫШЕЙ

КУЛИКОВ А. В., ПОПОВА Н. К.

Триптофангидроксилаза (КФ. 1. 14. 16. 4)—ключевой фермент биосинтеза серотонина—является естественным маркером нейронов серотониновой системы. Его локализация в головном мозгу связана с распределением перикарионов и окончаний серотониновых нейронов [1]. Триптофангидроксилаза синтезируется в перикарионах, находящихся, главным образом, в ядрах шва среднего мозга, откуда фермент аксональным транспортом перемещается в другие отделы мозга, иннервируемые серотониновыми нейронами [2]. Показано, что активность триптофангидроксилазы в отделах мозга, богатых перикарионами серотониновых нейронов (средний мозг, гипоталамус), гораздо выше, чем в области их окончаний (кора полушарий, гиппокамп) [3]. Однако связи между активностью фермента в этих образованиях не обнаружено [3]. Не ясно также, является триптофангидроксилаза в перикарионах и нервных окончаниях одной и той же формой фермента [4].

Целью настоящей работы является изучение активности триптофангидроксилазы в структурах мозга, богатых перикарионами серотониновых нейронов, и в области их окончаний.

Исследования проводили на половозрелых 2—3-месячных самцах мышей массой 25 г семи инбредных линий. На линиях BALB/c(C) и C57BL/6J(B6) был проведен гибридологический анализ и получены реципрокные гибриды первого $(C \times B6) \times (B6 \times C)$ и второго поколений $(B6 \times C) \times (B6 \times C)$. Мышей отсаживали от матерей и выращивали группами по 10 особей. За три дня до забоя животных рассаживали в отдельные клетки, чтобы исключить влияние группового эффекта.

Мышей декапитировали в утренние часы до кормления, быстро на холоду извлекали мозг, выделяли ствол и полушария и помещали в жидкий азот. Ствол головного мозга, включающий средний мозг, продолговатый мозг, таламус и гипоталамус, был выбран как отдел, содержащий перикарионы серотониновых нейронов, в то время как полушария, включающие кору, гиппокамп и полосатое тело,—как область окончаний серотониновых нейронов.

Отделы мозга гомогенизировали в 0,5 мл холодного 0,05 М триацетатного буфера, pH 7,5, содержащего 0,01 М 2-меркаптоэтанола.

Гомогенаты центрифугировали 30 мин при 20 000 г. Активность фермента определяли в надосадочной жидкости по методу Куликова [5] при концентрации субстрата—L-триптофана, равной 8×10^{-4} М, и в присутствии кофактора 6,7-диметилтетрагидроптеридина («Calbiochem»). Содержание белка в пробах определяли по Lowry [6]. Активность фермента выражали в пмоль продукта—5-окситриптофана/мг белка/мин.

Статистическая обработка проводилась с использованием корреляционного анализа и t-критерия Стьюдента [7].

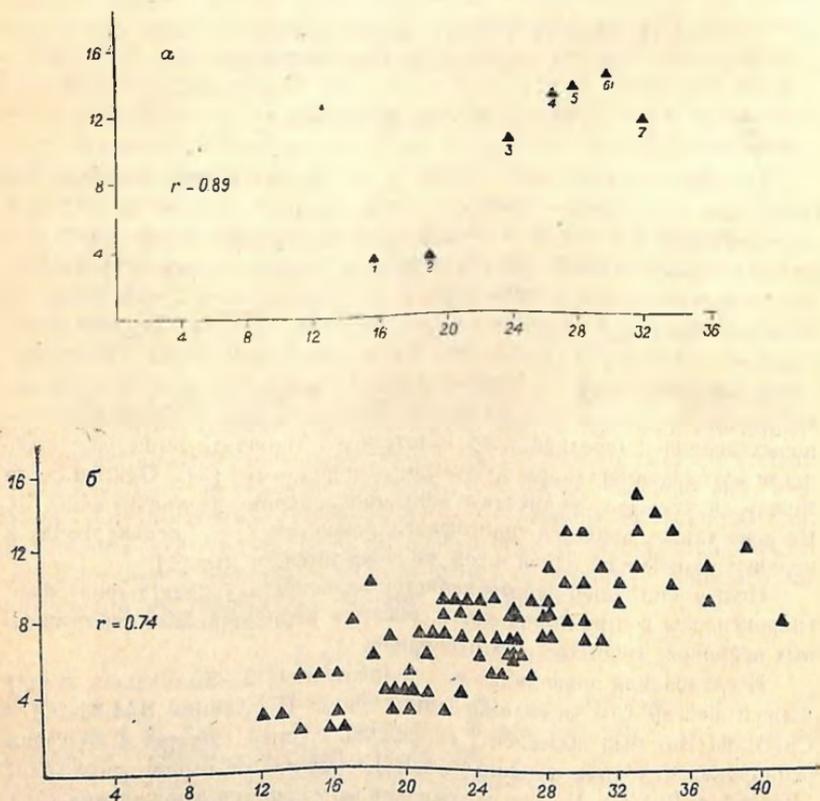


Рис. Корреляция между активностью триптофангидроксилазы в стволе и полушариях головного мозга у инбредных мышей (а) и гибридов второго поколения между линиями BALB/c и C57BL/6J (б). Треугольниками обозначены линии мышей: 1—DBA1, 2—BALB/c, 3—DD, 4—AKR/J, 5—СЗН/He, 6—СВА, 7—С57BL/6J. По оси абсцисс—активность триптофангидроксилазы в стволе головного мозга; по оси ординат—в больших полушариях головного мозга белка (в пмоль 5-окситриптофана/мг белка/мин)

В таблице приведены значения активности триптофангидроксилазы в стволе и полушариях головного мозга у мышей семи инбредных линий. Активность фермента в полушариях у всех изученных линий мышей ниже, чем в стволе, что хорошо согласуется с литературными данными,

полученными на других линиях мышей [3]. Более высокую активность триптофангидроксилазы в стволе головного мозга по сравнению с полушариями можно объяснить, исходя из морфоструктурных особенностей серотониновой системы. Серотонин головного мозга синтезируется, главным образом, в перикарионах серотониновых нейронов и, следовательно, этим обусловлена в них высокая активность фермента. В полушариях головного мозга триптофангидроксилаза доставляется аксональным транспортом. Это процесс медленный, и по мере продвижения фермент разрушается и теряет активность.

Таблица

Активность триптофангидроксилазы в стволе и полушариях головного мозга мышей

Линии	Активность фермента (пмоль/мг/мин)		Отношение ствол/полушария
	ствол	полушария	
DBA1	13,8±0,5 (4)	3,3±0,5 (1)	4,4±0,6 (4)
BALB/c	17,5±0,5 (26)	3,4±0,2 (14)	5,5±0,3 (14)
DD	25,1±1,1 (10)	10,3±1,8 (4)	2,9±0,7 (4)
AKR/J	26,0±1,0 (5)	13,2±0,4 (5)	2,0±0,1 (5)
C3H/He	27,7±1,2 (3)	13,7±1,9 (3)	2,1±0,3 (3)
CBA	28,9±0,7 (10)	14,0±0,7 (4)	2,1±0,2 (4)
C57BL/6J	32,0±0,8 (24)	11,4±0,6 (14)	3,2±0,2 (14)

Примечание. Цифры в скобках—число определений

Все изученные линии делятся на две, достаточно четко отличающиеся группы—с низкой и высокой активностями фермента. К первой группе относятся линии DBA1 и BALB/c, ко второй—все остальные. Для больших полушарий коры мозга характерна гораздо большая вариабельность, чем для ствола. Так, если активность фермента ствола головного мозга максимально различается в 2,5 раза, то в больших полушариях—в 4. Отношение между активностями фермента в стволе и в больших полушариях мозга наибольшее у линий первой группы—у них оно вдвое выше, чем у второй (таблица).

Отмечена коррелятивная связь между активностью фермента в этих двух отделах головного мозга. Так, у линий DBA1 и BALB/c она низка как в стволе, так и в больших полушариях головного мозга. Для линий DD, C3H/He, AKR/J, CBA и C57BL/6J характерна высокая активность фермента в обоих этих отделах. Коэффициент межлинейной корреляции (рис. 1, α) между этими признаками оказался значимым и положительным ($r=0,89$, $p<0,05$). Иными словами, определенному уровню активности триптофангидроксилазы—высокому или низкому—в стволе головного мозга мышей соответствует такой же уровень активности в больших полушариях.

Поскольку в основе различий между отдельными линиями лежат различия их генотипов, высокий коэффициент межлинейной корреляции позволяет предположить наличие общего генетического контроля активности триптофангидроксилазы в стволе и полушариях головного мозга.

Изучали взаимосвязь между этими признаками у гибридов второго поколения между контрастными по активности триптофангидроксилазы линиями BALB/c и C57BL/6J. Обнаружено, что коэффициент корреляции между активностью фермента в стволе и полушариях у гибридов второго поколения (рис. 1, б) высок ($r=0,74$, $p<0,01$).

Было установлено, что у гибридов первого поколения между линиями BALB/c и C57BL/6J корреляция между активностью фермента в стволе и больших полушариях отсутствует ($r=0,22$, $p>0,05$). Гибриды первого поколения между инбредными линиями являются генетически однородными и все разнообразие обусловлено средовыми воздействиями. Это свидетельствует о том, что корреляция между активностью триптофангидроксилазы в стволе и полушариях у гибридов второго поколения обусловлена межличинной (генотипической), а не внутрелинейной (средовой) корреляцией.

Полученные результаты еще раз подтверждают предположение о том, что корреляция между активностью триптофангидроксилазы в стволе и больших полушариях головного мозга генетически детерминирована. Четкая генетическая связь между активностями триптофангидроксилазы в этих структурах мозга дает основание предполагать, что активность фермента в них контролируется одним и тем же геном.

Рядом исследователей было показано, что триптофангидроксилаза в головном мозгу находится в двух формах: растворимой и связанной с синапсомами. В областях, содержащих перикарiony серотониновых нейронов, преобладает растворимая форма, а в областях, богатых нервными окончаниями,—связанная [4]. Первоначально предполагали, что эти формы представляют различные изоферменты триптофангидроксилазы. Однако после того, как было показано, что, изменив способ выделения, можно перевести связанную форму в растворимую, возникли сомнения в правильности данного предположения [4]. Четкая генетически детерминированная коррелятивная связь между активностью триптофангидроксилазы в стволе и полушариях, несомненно, служит подкреплением для представления, что эти две формы не являются изоферментами.

TRYPTOPHAN HYDROXYLASE ACTIVITY IN MICE BRAIN

KULIKOV A. V., POPOVA N. K.

Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch Acad. Sci. USSR,
Novosibirsk

The activity of tryptophan hydroxylase has been determined in brain stem and hemispheres in male mice of 7 inbred strains and hybrids of the first and second generations between BALB/c and C57BL/6J strains. It was shown that the activity of tryptophan hydroxylase is 2—5-fold higher in the brain stem than in the hemispheres. The genetically

determined positive correlation between the enzyme activities in these areas of brain has been established. A common genetic control of tryptophan hydroxylase activity in brain stem and hemispheres was supposed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Lovenberg W., Victor S.* Advances in Biochemical Psychopharmacology (E. Costa, G. L. Gessa, M. Sandler, eds.), N. Y., Raven Press, 10, p. 93—101, 1974.
2. *Meek J., Neff N. H.* J. Neurochemistry, 19, 1519—1525, 1972.
3. *Barchas J., Ciaranello B., Dominic J., Deguchi T., Orenberg E., Renson J., Kessler S.* Advances in Biochemical Psychopharmacology (E. Usdin, ed.), N. Y., Raven Press, 12, p. 195—204, 1974.
4. *Knapp S., Mandell A.* Life Sci., 16, 761—771, 1972.
5. *Кушкова А. В.* Вопросы мед. химии, 28, 135—139, 1982.
6. *Lowry O. H., Rosenbrough M. J., Farr A., Randall R. J. J.* Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
7. *Gál M.* Advances in Biochemical Psychopharmacology (E. Costa, G. L. Gessa, M. Sandler, eds.), N. Y., Raven Press, 11, p. 1—11, 1974.

Институт цитологии и генетики
СО АН СССР, Новосибирск

Поступила 14. VI 1982