



УДК 616.89—008.441.13.—02.615.37:577.112.34—07.

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРНЫХ АМИНОКИСЛОТ В МОЗГУ КРЫС С РАЗЛИЧНО ВЫРАЖЕННОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ МОТИВАЦИЕЙ

ОСТРОВСКИЙ С. Ю., *КИИНМАА К.

Институт биохимии АН БССР, г. Гродно

*Исследовательские лаборатории фирмы «Алко», Хельсинки, Финляндия

Определено содержание и взаимоотношения нейротрансмиттерных аминокислот в полушариях, мозжечке и стволе мозга генетических линий крыс, предпочитающих (AA) или отвергающих (ANA) растворы этанола при добровольном выборе. Обе линии различаются, главным образом, не по содержанию в мозгу аминокислот, а в основном по особенностям их взаимоотношений и, возможно, собственного метаболизма.

В патогенезе алкоголизма ЦНС отводится решающая роль, в связи с чем весьма детально исследуются различные функциональные особенности мозга и его отделов. Интенсивно изучаются процессы, контролируемые катехоламинами, АХ, серотонином, ГАМК и различными нейротропными пептидами [1, 2]. Меньше внимания до настоящего времени уделялось самим аминокислотам. Последние выступают не только как предшественники большинства нейромедиаторов, но также, как их производные, являются активными участниками почти всех процессов контролирующих функции нервных клеток. Наряду с известными тормозными (Тау, Гли, ГАМК), возбуждающими (Асп, Глу) нейроны аминокислотами [3], аналогичные или модуляторные функции приписываются сейчас фосфоэтаноламину (ФЭА), этаноламину (ЭА) и серусодержащим аминокислотам [4, 6]. В настоящем сообщении мы уделили внимание, главным образом, двум первым группам аминокислот.

Материалы и методы

Анализировали содержание свободных аминокислот правого и левого полушарий, мозжечка и ствола мозга генетических линий крыс, предпочитающих растворы этанола воде (AA) или потребляющих только воду (ANA) в условиях свободного выбора [7]. Животных вывели и содержали в виварии исследовательских лабораторий фирмы «Алко» (Хельсинки, Финляндия) на стандартном рационе питания. После декапитации мозг немедленно извлекали, разделяли на отделы, которые сразу же замора-

живали в жидком азоте. Гомогенаты готовили на 3%-ной сульфосалициловой кислоте и анализировали [8] на автоматическом анализаторе аминокислот Т-339 (ЧССР). Полученные данные обсчитывали на ЭВМ «Мегасатак 125/S M4A» (ПНР) по программам для установления достоверности различий и определения коэффициентов корреляции [9].

Результаты и обсуждение

Отделы мозга сравниваемых линий крыс не различались существенно (табл. 1) по содержанию основных нейротрансмиттерных аминокислот, хотя некоторое (на уровне выраженных тенденций) повышение уровня Тау, Гли и Асп в полушариях мозга отвергающих этанол крыс выявлялось. У той же разновидности животных значительно заметнее разброс данных между отделами по содержанию ГАМК, Гли и Глу. В

Таблица 1

Содержание нейротрансмиттерных аминокислот в отделах мозга АА (n=8) и АНА крыс (n=8), нмоль/г.

Отделы мозга	Тау	ГАМК	Гли	Асп	Глу
АА крысы					
Правое полушарие	4341±731	654±92	343±51	1223±208	6515±1474
Левое полушарие	5855±742	903±79	434±35	1189±210	6027±932
Мозжечок	4877±796	597±46	1024±127	1310±127	5026±1315
Стол	6704±1816	704±112	1187±507	1372±334	4655±908
АНА крысы					
Правое полушарие	7610±1432*	868±125	417±49	1457±207	6628±1042
Левое полушарие	7731±1344	944±183	570±74*	1946±360*	6505±1095
Мозжечок	4417±1358	474±61	1466±250	1112±221	2587±515
Стол	5393±1519	655±106	533±111	1417±312	3828±826
		2,3—p<0,001	5,7—p<0,001		5,7—p<0,001
		5,7—p<0,01	6,7—p<0,001		6,7—p<0,05
		7,8—p<0,05	7,8—p<0,01		

Примечание. *0,05<p<0,1 при сравнении АА и АНА.

обоих случаях, рассмотренных выше, различия одновременно регистрировали для пары тормозных и одной из возбуждающих аминокислот. Представляло интерес оценить функциональное состояние отделов мозга по соотношению соответствующих суммарных показателей (табл. 2) и только в этом случае содержание тормозных аминокислот в правом полушарии и менее заметно возбуждающих аминокислот в мозжечке было неодинаковым у АА и АНА крыс. Основной интегральный критерий (соотношение двух групп нейротрансмиттеров) оказался повышенным только в мозжечке АНА животных. Полученные данные хорошо согласуются с уже известной вариабельностью аминокислотного состава отделов мозга [10] при различных воздействиях на ЦНС и в целом, по показателям для правого полушария и мозжечка, позволяют говорить о некотором преобладании тормозных процессов в мозгу АНА крыс по сравнению с АА. Эти результаты соответствуют также показанной неоднократно более высокой

чувствительности предпочитающих воду животных [11] к наркотическому действию этанола, регистрируемому по продолжительности сна.

Интересная информация о том, как формируются взаимоотношения между различными по функциям нейротрансмиттерными аминокислотами может быть получена при рассмотрении соответствующих корреляционных взаимоотношений (табл. 3). По-видимому, при таком подходе уместно говорить о некоторых общих закономерностях и об особенностях, отличающих одну линию животных от другой.

Обращает на себя внимание чёткая положительная взаимозависимость уровня Глу, Гли и ГАМК практически во всех отделах мозга обеих линий животных. Механизмы, обеспечивающие выявленную закономерность, по-видимому, имеют двойную природу. Так, уже показано, что пулы Глу и Гли тесно взаимосвязаны метаболически [12]. Уровень ГАМК, как известно [1], обеспечивается декарбоксилированием Глу и здесь логичнее было ожидать отрицательной корреляции показателей. По-видимому, в формирование выявленной положительной ($p < 0.05-0.001$) взаимосвязи уровней обеих аминокислот решающий вклад вносят антагонистические функции обоих соединений [3], приводящие к их синхронному (уравновешивающему) освобождению из связывающих нейротрансмиттеры депо. К достаточно общей закономерности можно отнести и резкое (6-кратное) преобладание во всех отделах мозга АА и АНА крыс положительных корреляционных коэффициентов над отрицательными. Простое объяснение этому можно видеть в допущении, что в мозгу балансируются уровни отдельных нейротрансмиттерных аминокислот не выведением или разрушением отдельных из них, а более просто—дополнительным выбросом из мест связывания. Самые яркие примеры такого функционального уравновешивания одного нейротрансмиттера другим видны, помимо уже упомянутых выше аминокислот, в парах Глу-Тау, Асп-Гли для всех отделов мозга или в паре Глу-Гли для полушарий и мозжечка.

Значительно более сложен анализ взаимоотношений друг с другом функционально однотипных аминокислот. Так, известно, что Тау, являющийся тормозным нейротрансмиттером, подавляет эффекты каннтовой кислоты не только в отношении выброса Глу и Асп, но также ГАМК и Гли [13]. Самановая и каннтовая кислоты в дозах, вызывающих судороги у животных [14], повышают уровень Тау в межклеточных пространствах в 2—4 раза. В отсутствие судорог выброса Тау не наблюдается, что авторы склонны приписывать только противодействию Тау эпилептогенным аминокислотам (Асп, Глу). Противоречие состоит в том, что тот же Тау тормозит выброс другого тормозного медиатора ГАМК [15], способного снимать судорожные эффекты самых различных агентов. Возможно, Тау с ФЭА выполняют в ЦНС какие-то модуляторные функции и этим можно объяснить очень неоднотипные взаимосвязи уровней Тау и Гли в правом и левом полушариях или в мозжечке АА и АНА крыс, когда корреляционные показатели меняются от сильно положительных (0,87) до ничтожно малых (0,03) или даже отрицательных (—0,68). Уже отмеченные другими исследователями сопряженные сдвиги в уровнях Тау и ФЭА в гиппокампе [4] выявлены нами (табл. 3) с некоторыми особен-

Таблица 2

Интегрированные показатели, характеризующие нейротрансмиттерные
аминокислоты в мозгу АА и АНА крыс

Показатели	Правое полушарие		Левое полушарие		Мозжечок		Стол	
	АА	АНА	АА	АНА	АА	АНА	АА	АНА
ГАМК+Гли+Тар (мМ)	5.4 ± 0.7	$8.9 \pm 1.5^*$	7.2 ± 0.8	9.2 ± 1.5	6.5 ± 0.7	6.4 ± 1.6	8.6 ± 2.3	6.6 ± 1.6
Асп+Глу	7.7 ± 1.4	8.1 ± 1.2	7.2 ± 1.1	8.4 ± 1.3	6.3 ± 1.3	$3.7 \pm 0.7^{**}$	6.0 ± 1.1	5.2 ± 0.7
$\frac{\text{ГАМК+Гли+Тар}}{\text{Асп+Глу}}$	0.81 ± 0.13	1.15 ± 0.17	1.05 ± 0.09	1.11 ± 0.09	1.16 ± 0.13	$1.69 \pm 0.18^*$	1.38 ± 0.19	1.31 ± 0.27

Примечание. * $p < 0.05$; ** $0.05 < p < 0.1$.

Таблица 3

Корреляционные взаимоотношения (r) уровней нейротрансмиттерных
аминокислот и их производных в мозгу AA и ANA крыс

Сравнива- емые пока- затели	Правое полушарие		Левое полушарие		Мозжечок		Ствол	
	AA	ANA	AA	ANA	AA	ANA	AA	ANA
ГАМК-Гли	0,74*	0,85*	0,34	0,76*	-0,35	0,94*	0,60	0,38
ГАМК-Тау	0,77*	0,53	0,72*	0,86*	0,83*	0,94*	0,90*	0,63
ГАМК-Асп	0,44	0,22	0,43	0,83*	0,26	0,95*	0,87*	0,97*
ГАМК-Глу	0,68	0,66	0,55	0,87*	0,94*	0,96*	0,92*	0,38
ГАМК-Гли	0,76*	0,93*	0,46	0,95*	0,97*	0,94*	0,90*	0,97*
ГАМК-ЭА	-0,65	0,48	0,03	-0,38	0,39	-0,42	0,25	0,07
ГАМК-ФЭА	0,98*	0,90*	0,51	0,99*	0,36	0,60	0,73*	0,09
Глу-Гли	0,88*	0,80*	0,97*	0,96*	0,90*	0,99*	0,99*	0,64
Глу-Асп	0,89*	0,83*	0,89*	0,73*	0,22	1,00*	0,65	0,65
Глу-Гли	0,84*	0,65	0,94*	0,67	0,41	0,99*	0,27	0,27
Глу-Тау	0,44	0,42	0,94*	0,85*	0,70*	0,87*	0,73*	0,37
Глу-ФЭА	0,62	0,40	0,97*	0,87*	0,12	0,67	0,47	0,27
Глу-ЭА	-0,36	0,24	0,12	-0,69	0,63	-0,56	0,42	0,50
Асп-Гли	0,97*	0,83*	0,82*	0,46	0,65	0,99*	0,90*	0,27
Асп-Тау	0,57	0,50	0,75*	0,56	-0,11	0,86*	0,84*	0,67
Асп-ЭА	0,36	0,35	0,25	-0,35	0,24	-0,54	0,04	0,31
Асп-ФЭА	0,77*	0,79*	0,80*	0,79*	0,03	0,71*	0,90*	0,02
Гли-Тау	0,71*	0,03	0,87*	0,62	-0,68	0,85*	0,68	0,34
Гли-ЭА	-0,41	0,80*	0,15	-0,38	0,05	-0,45	-0,23	-0,19
Гли-ФЭА	0,77*	0,80*	0,96*	0,74*	0,26	0,75*	0,85*	0,38
Тау-ФЭА	0,76*	0,32	0,92*	0,85*	0,21	0,47	0,90*	0,75*
Тау-ЭА	-0,72*	-0,36	0,22	-0,58	-0,09	-0,52	0,10	0,53
ФЭА-ЭА	-0,51	0,56	-0,05	-0,33	0,00	-0,01	-0,07	0,66
Тре-Гли	0,90*	0,75*	0,79*	0,83*	0,21	0,78*	0,59	0,36

Примечание..* $p < 0,05 - 0,01$.

ностями у сравниваемых линий животных и в других отделах мозга. По-видимому, ФЭА является активным участником процессов, контролирующих межнейрональные взаимоотношения, и поэтому мы обратили особое внимание на связи других аминокислот с ФЭА и его самого с собственным предшественником ЭА. Связи ГАМК-Тау, Глу-Тау оказываются при таком сравнении несколько более выраженными, чем ГАМК-ФЭА, Глу-ФЭА. Не все повторяется по характеру взаимосвязей Тау и ФЭА с Асп и Гли. Сам уровень ФЭА практически не зависит от содержания в мозгу ЭА, что указывает на два важных обстоятельства: 1) этаноламинкиназа, синтезирующая ФЭА, не причастна к его функциям или, что может быть более осторожным утверждением, этот фермент не является лимитирующим звеном в рассматриваемых процессах [16]; 2) нейромодуляторные свойства ЭА не зависят от ФЭА [6]. Под сомнение можно поставить и сами нейромодуляторные свойства ЭА, поскольку из 40 рассчитанных для него коэффициентов корреляции с нейротрансмиттерными аминокислотами лишь в двух случаях получены достоверные значения, при этом противоположные по знаку для Тау и Гли (табл. 3). Перспективной для дальнейшего изучения возможностей активно влиять на уровень тормозной аминокислоты Гли представляется обнаруженная нами его тесная связь с Тре, особенно в полушариях мозга. Ранее такая связь была выявлена в отношении спинного мозга [17]. Преимущества использования Тре, а не самого Гли для указанной выше цели можно обосновать тем, что последний весьма активно включается в различные метаболические превращения [18], в том числе реакции с образованием аммиака, очень токсичного для мозга [1]. Гли выступает не только как тормозной агент [3, 19], но, возможно, и как регулятор активности ГАМК-ергических нейронов [20].

Выявляются некоторые особенности взаимоотношений определяемых нами соединений как показателей разной организации нейротрансмиттерных пулов в мозгу АА и АНА крыс. Наибольшее число несовпадения показателей для сравниваемых линий животных (табл. 3) обнаруживается в мозжечке. Только у АА крыс не выявляется связь в парах ГАМК-Гли, ГАМК-Асп, Глу-Асп, Глу-Гли, Асп-Гли, Асп-Тау, Гли-Тау, при этом большая часть (5 из 7) показателей указывает на несопряженность сдвигов содержания тормозящих и возбуждающих нейронов соединений. Сделанный ранее на основании других подходов (табл. 2) вывод, что АНА крысы отличаются от АА преобладанием в их мозгу, особенно в мозжечке, тормозных процессов находит, таким образом, еще одно подтверждение. Выявленная особенность функциональных взаимоотношений нейротрансмиттерных аминокислот именно в мозжечке особенно интересна, поскольку этот отдел мозга отличается избирательной чувствительностью к алкоголю [21].

В стволе моза, в отличие от мозжечка, наоборот, преобладают более тесные корреляционные взаимосвязи у АА линии (табл. 3). В полушариях мозга взаимоотношения ГАМК с ее функциональными антиподами (Асп, Глу) положительно коррелируют с достаточной достоверностью только у

ANA крыс. Напротив, в парах Глу-Гли, Гли-Тау таким образом выделяются только AA животные.

В заключение следует обратить внимание и на различное по полушариям распределение ряда показателей. Алкоголизм и предрасположенность к нему характеризуются как функциональной, так и морфологической [22, 23] асимметрией полушарий. Животные избранных нами линий неидентичны по выраженности алкогольной мотивации и рассматриваются [7, 24] как адекватная модель соответствующей патологии у людей. Несовпадающих параметров для обоих полушарий одной и той же линии крыс (табл. 3) достаточно много. Чаще различия касаются лишь достоверности соответствующих коэффициентов корреляции, что свидетельствует не о принципиальных (качественных) расхождениях, а лишь об относительной стабильности рассматриваемых взаимосвязей. Последние, как показано, не могут считаться одинаковыми у AA и ANA крыс.

Давая общую оценку полученным результатам, можно считать, что AA и ANA крысы различаются, главным образом, не по содержанию в мозгу нейротрансмиттерных аминокислот, а в основном по особенностям их взаимоотношений и, возможно, собственного метаболизма.

RELATIONSHIPS BETWEEN NEUROTRANSMITTER AMINO ACIDS IN THE BRAIN OF RATS WITH DIFFERENT ALCOHOL PREFERENCE

OSTROVSKII S. Yu., KIINMAA K.

Institute of Biochemistry, Academy of Sciences of the Byelorussian SSR, Grodno, and „Alco“ Research Laboratories, Helsinki, Finland

We determined the levels of neurotransmitter amino acids and their proportions in the hemispheres, cerebellum and brain stem of two rat strains: one preferring alcohol (AA) and the other avoiding ethyl alcohol containing solution (ANA) under the conditions of free choice. The two strains differ mainly in proportions of the amino acids and, perhaps, their metabolism rather than in their levels in the brain.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сытинский И. А. Биологические основы действия этанола на центральную нервную систему, М., 1980.
2. Этанол и обмен веществ (под ред. Ю. М. Островского), Минск, Наука и техника, 1982.
3. Bloom F. E. Amer. J. Physiol. v. 246, p. 184—194, 1984.
4. Lehman A., Hamberger A. J. Neurochem. v. 42, p. 1286—1290, 1984.
5. Do K. Q., Mattenberger M., Streit P., Caénod M. J. Neurochem. v. 46, p. 779—786, 1986.
6. Wolfensberger M., Felix D., Cuénod M. Neurosci. Lett. v. 32, p. 53—58, 1982.
7. Eriksson K.—In: Animal Models in Alcohol Research., p. 3—20, Acad. Press, N. Y.—L., 1980.
8. Бенсон Дж.—В кн.: Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков, с. 9—76, М., Мир, 1974.
9. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика, Минск, 1973.

10. Wood J. D., Kurylo E. J. *Neurochem.* v. 42, p. 420—425, 1984.
11. Fuller J. L.—In: *Animal Models in Alcohol Research*, p. 57—62, Acad. Press, N. Y.-L., 1980.
12. Yong A. M., Bradford H. F. *J. Neurochem.*, v. 47, p. 1399—1404, 1986.
13. Morán J., Domínguez L., Pasantes-Morales H. *J. Neurochem.*, v. 48, suppl., p. S102C., 1987.
14. Wade J., Samson F., Nelson S., Pazdernik T. J. *Neurochem.*, v. 49, p. 645—650, 1987.
15. Namina M., Okomoto K., Sakai Y. *J. Neurochem.*, v. 40, p. 1—9, 1983.
16. Kunishita T. *J. Neurochem.*, v. 48, p. 1—7, 1987.
17. Maher T., Wurtman R. *Lif. Sci.*, v. 26, p. 1283—1286, 1970.
18. Montis G., Beaumont K., Javoy-Agid F., Perry F. *J. Neurochem.* v. 38, p. 718—724, 1982.
19. Staatz-Benson C., Potasher S. J. *J. Neurochem.* v. 49, p. 128—137, 1987.
20. Wenthold R., Altschuler R., Huie D. *J. Neurochem.*, suppl., p. S63A, 1987.
21. Круликов Р. И., Майвелис М. Я. *Алкоголизм и потомство*, М., Медицина, 1987.
22. Tarter R., Van Thiel D. *Alcohol and the Brain. Chronic Effects*. Plenum Press, N. Y.—L., 1985.
23. Ishibashi M., Nakazawa Y., Yokoyama T., Takanaba M., Okomoto K. *Drug Alcoh. Depend.*, v. 19, p. 325—332, 1987.
24. Островский Ю. М., Садовник М. Н., Сатановская В. И. *Биологический компонент в генезе алкоголизма*, Минск, Наука и техника, 1986.

Поступила 14. IV. 1988