



УДК 577.11:616.45—001.1/3

ЭФФЕКТЫ ПЕПТИДА ДЕЛЬТА-СНА НА МЕТАБОЛИЗМ БИОГЕННЫХ АМИНОВ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НЕВРОПАТОЛОГИИ, ВЫЗВАННОЙ ВВЕДЕНИЕМ L-ДОФА И ПЕНИЦИЛЛИНА

ДОВЕДОВА Е. А.

НИИ мозга ВНИЦ психического здоровья АМН СССР, Москва

Исследовали эффект пептида дельта-сна при системном введении кроликам, кошкам (30—120 мкг/кг массы тела) до и после воздействий L-ДОФА или пенициллина, приводящих к невро- и психопатическим отклонениям.

При действии пептида дельта-сна обнаружен реципрокный характер изменений МАО типов А и В при отсутствии сдвигов АХЭ в синапсосамах и митохондриях тел нейронов моторной коры и хвостатого ядра мозга.

Показаны также изменения содержания дофамина, серотонина и их метаболитов—норадреналина и 5-оксипиридоксусной кислоты в условиях эксперимента.

Предполагается, что в основе действия пептида дельта-сна лежит активация МАС типа А всей серотонинергической системы мозга, обеспечивающая адаптивное поведение животных.

В экспериментальных и клинических исследованиях показано разностороннее участие коротких пептидов в различных сложных функциях организма, таких, как боль, память сон, что указывает на универсальные принципы действия этих пептидов и позволяет считать их природными корректорами, адаптантами [1, 2].

Регулирующее влияние пептидов на синаптическом уровне осуществляется путем изменения многих метаболических процессов и опосредовано исходным состоянием нейромедиаторных систем. Оно может не проявиться на фоне оптимального функционирования ЦНС, но оказывается более выраженным при их нарушении или в ответных реакциях на стресс, шок и другие воздействия [3, 4].

В литературе имеются биохимические и физиологические данные о регулирующем эффекте пептида дельта-сна (ПДС) при различных патологических состояниях (гипоксии, алкогольной мотивации, холодовом и эмоциональном стрессе и т. д.) [5—7].

В связи с этим представлялось целесообразным изучение эффектов ПДС в мозгу при развитии неврологических и психопатологических отклонений. При моделировании этих состояний на животных использовался

ли фармакологические воздействия—введение L-ДОФА, приводящее к некоторым функциональным признакам психомоторного возбуждения [8, 9], и пенициллина Г, вызывающего экспериментальную эпилепсию [10].

В настоящей работе состояние нейромедиаторных систем оценивали по уровню активности MAO типов А и В, а также содержанию биогенных аминов в структурах сенсомоторной коры и хвостатого ядра мозга в норме и под влиянием ПДС до или после фармакологического воздействия.

Материалы и методы

Все животные (кошки, кролики) были объединены в группы по сериям эксперимента (3—5 опытов в каждой серии): I группа—контрольные животные (беспородные кошки массой 3,0—3,5 кг и кролики, массой 1,8—2,0 кг породы Шиншилла), II группа—экспериментальные животные, подвергнутые фармакологическому воздействию: одноразовое внутривентрикулярное введение кроликам L-ДОФА в дозе 50 мг/кг массы тела (препарат «Levodopum, Phargmos», Финляндия); одноразовое внутримышечное введение кошкам пенициллина Г, 200000 ME/кг массы тела (кристаллический препарат калий-бензилпенициллин, «Galenika», СФРЮ); III группа—экспериментальные животные, которым вводили ПДС* (кошкам внутривентрикулярно в дозе 120 мг/кг, кроликам—субокулярно в дозе 30 мг/кг, через 2 ч после введения пенициллина кошкам и через 1 ч после введения L-ДОФА кроликам). При моделировании на кошках экспериментальной эпилепсии была поставлена IV серия экспериментов (введение животным ПДС за 60 мин до введения пенициллина. Развитие эпилептической активности наблюдали в течение 2-х ч. Эффекты прослеживали в течение 30 мин, после чего животных декапитировали.

Объектом исследования служили субфракции «легких» и «тяжелых» синапсом (С и D) и свободных митохондрий нейронов (Е), выделенные в градиенте плотности сахарозы 0,8—1,4 М, а также гомогенаты моторной коры и хвостатого ядра. В указанных образованиях мозга спектрофотометрически определяли содержание белка по Lowry и соавт., активность АХЭ по Hestrin [11] и молекулярных форм MAO типа А (субстрат-серотонин) по Горкину и соавт. [12] и типа В (субстрат—л-нитрофенилэтиламин) по Роров и соавт. [13].

В гомогенатах коры и хвостатого ядра мозга спектрофлуориметрическим методом [14] определяли содержание дофамина (ДА), норадреналина (НА), серотонина (5'-ОТ) и 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК).

Результаты каждой серии опытов обрабатывали статистически и выражали в единицах У. А. ферментов/мг белка фракции или ПГ субстратов/г ткани, а также в процентах изменения исследуемых показателей по сравнению с контролем.

* ПДС синтезирован в Институте биорганической химии им. М. М. Шемякина АН СССР, за что приносим глубокую благодарность ведущему научному сотруднику Михалевой И. И.

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлено изменение (в %) активности МАО типов А и Б и АХЭ в субфракциях синапсом (С и D), а также синаптических мембран (В) и митохондрий нейронов (Е) в результате воздействия L-ДОФА и на его фоне—эффект ПДС.

Установили, что через 1 ч после введения L-ДОФА в субклеточных структурах мозга отмечена тенденция к активации МАО типа Б, особенно в сенсомоторной коре, а также статистически достоверное снижение активности МАО типа А и АХЭ в обоих образованиях мозга.

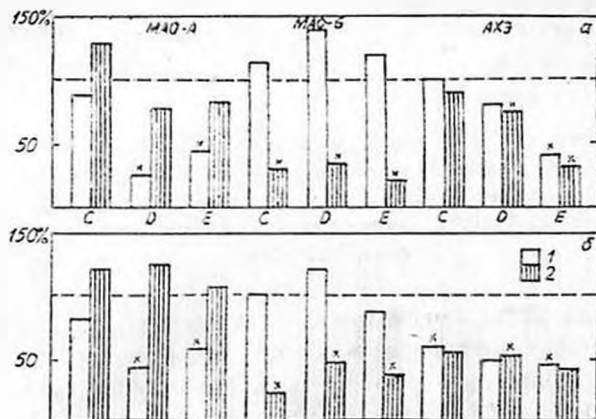


Рис. 1. Влияние ПДС на активность ферментов в субфракциях сенсомоторной коры (а) и хвостатого ядра (б) мозга кроликов в норме и на фоне введения L-ДОФА (в %). С—«легкие» синапсомы; Д—«тяжелые» синапсомы; Е—свободные митохондрии клеток. 1—изменение ферментной активности под влиянием L-ДОФА (60 мин). 2—изменение ферментной активности под влиянием ПДС на фоне L-ДОФА.

Содержание ДА, НА, 5'-ОТ и 5-ОИУК в гомогенатах коры и хвостатого ядра при введении L-ДОФА изменялось незначительно (рис. 2).

Эффект ПДС по направленности был противоположен действию L-ДОФА на ферментативную активность и выражался в практической нормализации активности МАО типа А и значительном подавлении МАО типа Б в субфракциях сенсомоторной коры и хвостатого ядра при отсутствии влияния на активность АХЭ (рис. 1).

Под влиянием ПДС на фоне действия L-ДОФА обнаружено статистически достоверное снижение содержания НА и накопление 5-ОИУК в обоих образованиях мозга, более выраженные в хвостатом ядре.

Полученные изменения в содержании 5-ОИУК под влиянием ПДС отражают активацию МАО типа А, которая, по-видимому, лежит в основе механизма действия этого пептида, как было показано ранее [15]. При этом не обнаружено значительного нарастания содержания ДА, но отмечено статистически достоверное снижение НА в исследуемых структурах мозга, что косвенно свидетельствует о подавлении синтеза этих

медиаторов (рис. 2). Таким образом, можно предположить, что, наряду с активацией серотонинергической системы, ПДС реципрокно подавляет катехоламинергическую медиацию. В то же время, по-видимому, эффекты ПДС не затрагивают механизмы холинергической передачи.

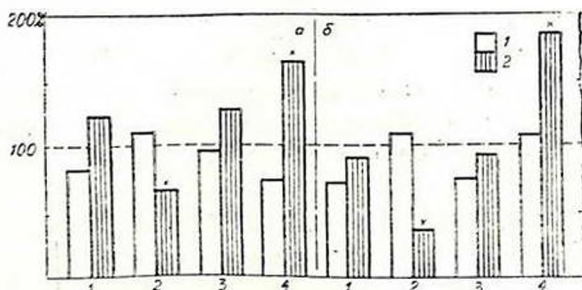


Рис. 2. Влияние ПДС на содержание биогенных аминов в гомогенатах коры (а) и хвостатого ядра (б) мозга кроликов (в %): 1—дофамин, 2—норадреналин, 3—серотонин, 4—5'-оксиндолуксусная кислота. Светлые столбики—введение L-ДОФА; заштрихованные столбики—эффект ПДС на фоне L-ДОФА.

При создании экспериментальной эпилепсии у кошек в наших опытах эпилептиформная «шипиковая» активность проявлялась на протяжении 3—4 ч с периодами от 1 до 5 с и сопровождалась миоклоническими сокращениями мышц [16]. Через 1 ч после введения пенициллина в синапсомы (но не митохондриях тел нейронов) показано снижение активности МАО типа А и нарастание активности МАО типа Б (рис. 3)*.

Действие ПДС на фоне развившейся эпилептиформной активности приводило к незначительной нормализации МАО типа А; в отношении же МАО типа Б эффект пептида не проявлялся (активность этого фермента даже нарастала во времени). При этом характер ЭЭГ не изменялся: разряды охватывали все исследуемые структуры мозга.

При введении ПДС за 1 ч до начала эпилептиформных разрядов при дальнейшем развитии эпилепсии в течение 30 мин активность МАО типов А и Б в субфракциях моторной коры и хвостатого ядра мозга кошек практически не отличалась от нормы (рис. 3). На ЭЭГ в хвостатом ядре появлялись медленные волны, характерные для ПДС, разряды охватывали не все структуры мозга и не одновременно [16].

Таким образом, при создании экспериментальной эпилепсии у животных ПДС может оказывать результирующее влияние на медиаторный обмен, однако это скорее превентивный эффект, создающий условия для ослабления патологического воздействия. На фоне развившейся эпилептической активности антистрессорный эффект пептида на исследуемые биохимические показатели практически отсутствует.

В литературе имеются физиологические данные о подавляющем действии ПДС на эпилептогенные очаги, созданные аппликацией стрихнина.

* Статистическая обработка в этой серии экспериментов не проводилась ($n=3$).

в коре больших полушарий мозга кошек, однако авторы указывают, что антиэпилептический эффект ПДС больше выражен при «стрихнинной» эпилепсии, чем при эпилепсии у крыс, вызванной пенициллином [17].

На основании полученных результатов можно сделать заключение, что при моделировании двух избранных экспериментальных невро- или психопатологических синдромов путем фармакологической индукции (введение L-ДОФА или пенициллина) нарушается нормальное функционирование нейротрансмиттерных систем, выражающееся в сдвигах активности ферментов, специфичное для каждого из них и неодинаковое в различных образованиях мозга.

При использовании ПДС до или на фоне нарушенного функционирования ЦНС происходят сдвиги в активности ферментных систем, часть которых противоположно направлена по отношению к действию фармакологического агента MAO типа Б, при этом эффекты регуляторного пептида становятся более выраженными по сравнению с контролем.

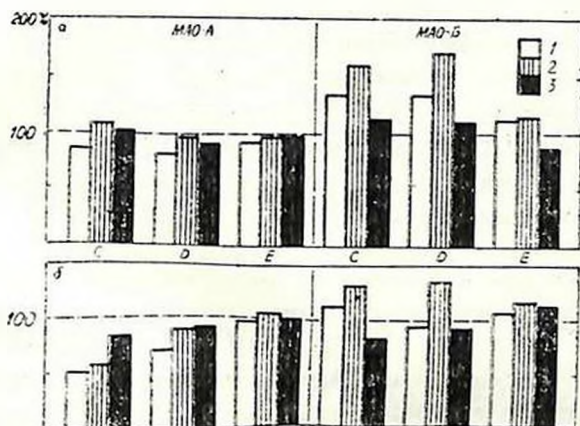


Рис. 3. Влияние ПДС на активность MAO типов А и Б в субфракциях моторной коры (а) и хвостатого ядра (б) мозга кошек в условиях экспериментальной эпилепсии (в %). 1—изменение активности MAO после введения пенициллина Г. 2—изменение активности MAO под влиянием ПДС после развития эпилепсии. 3—изменение активности MAO под влиянием ПДС до развития эпилепсии

Ранее на основании электрофизиологических данных нами было высказано предположение, что под влиянием ПДС происходит как бы затормаживание восприятия («экранизация») внешних сенсорных стимулов, в основе чего лежит активация MAO типа А и всей серотонинергической системы [18]. В этом, по-видимому, состоит одно из отличий механизма действия ПДС от эндорфинов и морфина, которые первично оказывают ингибирующее влияние на активность DA-ергических нейронов [4].

Активация серотонинергической системы на поведенческом уровне снимает психомоторное возбуждение и подавляет эпилептиформную ак-

тивность животных. Из литературы известно, что 5'-ОТ участвует в регуляции сексуального поведения, цикла сон-бодрствование и т. д. и, по-видимому, играет важную роль в развитии различных клинических состояний, в частности аффективных расстройств и депрессий [19].

Механизмы действия регуляторных пептидов, в том числе и ПДС, на нейромедиаторные системы полностью не вскрыты, их взаимодействия носят сложный характер: помимо пресинаптической модуляции нейротрансмиссии (изменения синтеза, высвобождения и обратного захвата медиаторов) возможно влияние на их связывание с соответствующими постсинаптическими рецепторами. В литературе имеются сведения о возможности связывания коротких пептидов с липидным компонентом мембраны [1]. На основании экспериментальных данных было высказано предположение о прямом влиянии экзогенного ПДС на митохондрии мозга и о мембранном эффекте этого пептида, отчетливо проявляющемся при стрессорном состоянии организма [7]. Изменяя мембранный потенциал в синапсах и проводимость нейронов, пептиды способны регулировать эффективность действия медиаторов. Не исключена возможность и непосредственного влияния пептидов на ферментативную активность.

В то же время, изменение активности ферментов *in vivo* обусловлено рядом факторов, поэтому полученные результаты не позволяют судить о прямом воздействии ПДС на активный центр МАО А. Исходя из литературных данных, можно предположить взаимодействие пептида с регуляторным участком фермента [20].

В наших экспериментах показано значительное нарастание в образованиях мозга содержания конечного продукта обмена 5'-ОТ—5-ОИУК без заметного изменения уровня самого нейромедиатора под влиянием ПДС. По-видимому, регуляторные пептиды и, в частности ПДС, участвуют в поддержании баланса моноаминов в мозгу и, таким образом, играют важную роль в адаптивных процессах в ЦНС.

На основании полученных результатов можно сделать заключение, что по крайней мере одним из элементов антиневротического действия ПДС является активация серотонинергической системы, приводящая к изменению функционирования других нейромедиаторных систем, что в свою очередь, отражается на нейрональной активности и поведении животных.

При изыскании методов и путей коррекции нарушенных звеньев метаболических процессов в мозгу при использовании регуляторных пептидов, в данном случае ПДС, в дальнейшем следует учитывать характер действия ПДС на активность МАО типов А и В, поскольку в последние годы эти ферменты привлекают все больший интерес исследователей в связи с изучением актуальных вопросов невропатологии и психиатрии, в частности диагностики шизофрении [21].

THE EFFECT OF DELTA-SLEEP INDUCING PEPTIDE ON METABOLISM OF BIOGENIC AMINES UNDER EXPERIMENTAL NEURO- AND PSYCHOPATHIC DISTURBANCES

DOVEDOVA E. L.

Brain Research Institute, National Mental Health Center, USSR
Academy of Medical Sciences, Moscow

We studied the effect of delta-sleep inducing peptide systemically administered to rabbits or cats (30—120 ug/kg body weight) before and after administration of L-DOPA and penicillin leading to neuro- or psychopathic disturbances.

The effect of delta-sleep inducing peptide leads to reciprocal changes in MAO types A and B, whereas the activity of acetylcholine esterase in synaptosomes and mitochondria of neuron bodies from the motor cortex *n. caudatus* remains unchanged. Some shifts in the levels of dopamine, serotonin and their metabolites-noradrenaline and 5-hydroxyindolylacetic acid were also observed under experimental conditions.

It is proposed that the action mechanism of delta-sleep inducing peptide involves the activation of MAO type A in the whole serotonergic system of the brain, which is responsible for the adaptive behavior.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клуша В. Е.—В кн.: Пептиды—регуляторы функций мозга, с. 181, Зинатне. Рига, 1984.
2. Ашмарин И. П., Кругликов Р. И. Нейрохимия, т. 2, с. 56—63, 1983.
3. Ашмарин И. П. Вопр. мед. химии т. 30, с. 2—7, 1984.
4. Бурчинский С. Г. Журн. невропатол. и психиатрии, т. 85, с. 1394—1400, 1985.
5. Коплик Е. В., Всаев В. Ф., Михалева И. И., Сарисян А. С., Иванов В. Т., Судяков К. В. Докл. АН СССР, т. 267, с. 230—233, 1982.
6. Кричевская А. А., Бондаренко Т. И., Кругликова Е. Ю., Михалева И. И. Физiol. журн. СССР, т. 72, № 6, с. 843—845, 1986.
7. Хватова Е. М., Доведова Е. Л., Михалева И. И. Нейрохимия, т. 6, с. 57—63, 1987.
8. Подольский И. Я.—В кн.: Нейромедиаторные механизмы памяти и обучения, Пушнину, с. 59, 1984.
9. Попова Н. С., Качалова Л. М.—В кн.: Адаптивные и компенсаторные процессы в головном мозге, с. 94, М., 1986.
10. Адрянов О. С., Доведова Е. Л., Всков Р., Ракич Л., Ербанова А., Панцешева Н. В сб.: Труды I съезда психиатров соц. стран, с. 162—168, М., 1987.
11. Hestrin S. J. Biol. Chem. v. 180, p. 249—255, 1949.
12. Горкин В. З., Верскаина А. В., Гриднева Л. И.—В кн.: Современные методы в биохимии, т. 2, с. 155—157, М., Медицина, 1968.
13. Popov N., Rosler V., Thiemann C., Mathies H. Acta Biol. et Med. Germ., B. 26, S. 239—241, 1971.
14. Коган Б. М., Нечасов Н. В. Лаб. дело, т. 5, с. 301—303, 1979.
15. Доведова Е. Л., Ашмарин И. П.—Бюл. эксперим. биол. и мед., т. 93, с. 56—58, 1982.

16. Попова Н. С., Доведова Е. А., Вескова Р., Якович Б., Адрианов О. С., Ракич Л.— В кн.: Интегративная деятельность мозга, с. 140—142, М., 1988.
17. Крыжановский Г. Н., Шандра А. А., Годлевский Л. С., Карпова М. Н., Михалева И. И., Иванов В. Т. Бюл. эксперим. биол. и мед., т. 14, с. 582—585, 1987.
18. Доведова Е. А., Попова Н. С., Качалова А. М. Нейрохимия, т. 2, с. 138, 1983.
19. Шоу Д. А.—В кн.: Нейротрансмиттерные системы, с. 196—201, М., Медицина, 1982.
20. Вальдман А. В. Вопр. мед. химии, т. 30, с. 56, 1984.
21. Москвитина Т. А., Камышанская Н. С., Горкин В. З. Вопр. мед. химии, т. 32, с. 98—102, 1986.

Поступила 15. VI 1988

Нейропептиды. Методология. 370 с., 1989 г.

Neuropeptides A. Methodology (ed. G. Fink and A. J. Harmar) J. Wiley and Sons, Baffins Lane, England, 370 p., 1989.

Книга вышла в серии IBPO Handbook Series (Методы нейронаук, т. 11). В этом томе содержится детальное описание современных методов для изучения нейропептидов, используемых в ведущих лабораториях мира. Рассматриваются, в частности, такие вопросы, как технология для молекулярной биологии, гибридизация *in situ*, иммуоцитохимия, морфометрия ультраструктур и определение высвобождения нейропептидов *in vivo* и *in vitro*. В книге затрагиваются также биохимические и электрофизиологические методы изучения взаимодействия между нейропептидами и рецепторами и системами вторичных мессенджеров. Подобные подходы на биохимическом и клеточном уровне приводят в конечном итоге к оценке методов для изучения поведения организма в целом.