



УДК 612.822.1

ДЕЙСТВИЕ НЕЙРОГОРМОНА «С» НА ВЫСВОБОЖДЕНИЕ И ЗАХВАТ [³H]НОРАДРЕНАЛИНА В СИНАПТОСОМАХ ГИПОТАЛАМИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ МОЗГА КРЫС

АРАКЕЛЯН А. Н., АРМЕНИЯН А. Р., СРАПИОНЯН Р. М., КАРАПЕТЯН Р. О.,
СААКЯН Ф. М., СААЖЯН С. А., ГАЛОЯН А. А.

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

В отделе гормонов Института биохимии АН АрмССР обнаружены 4 пептидных нейрогормона («К», «С», «Г» и гексапептид), которые образуются в нейросекреторных гранулах клеток магнoцеллюлярных ядер гипоталамуса крупного рогатого скота и оказывают регулирующее влияние на сердечную деятельность [1]. В дальнейшем были выделены специфические коронароактивные белки, являющиеся предшественниками и носителями этих нейрогормонов [2]. Исследования субклеточного распределения последних показали локализацию их в синаптосомах гипоталамуса и коры мозга [3]. Из кардиотропных нейрогормонов наиболее подробно изучен нейрогормон «С» (нС). Установлено, что нС—водоростворимое низкомолекулярное соединение с высокой коронарорасширяющей способностью. Он расширяет артерио-венозные анастомозы, открывая закрытые резервные сосуды сердца [4], является активным регулятором ряда метаболических процессов в мозгу и висцеральных органах, усиливает гликолиз, гликогенолиз [5, 6], полностью ингибирует ФДЭ сАМР и сGMP сердца и мозга быка, тем самым повышая уровень циклических нуклеотидов внутри клетки [7].

Гипоталамическая область богата моноаминергическими нервными окончаниями, следовательно, синаптосомная локализация предшественников вышеупомянутых нейрогормонов предполагает возможное участие их в регуляции обмена нейромедиаторов. Исходя из этого, было интересно изучить влияние нС на захват и высвобождение [³H]норадреналина ([³H]НА) в синаптосомах гипоталамической области.

Синаптосомы из гипоталамической области мозга крыс выделяли по методу Hajos [8]. Полученную синаптосомную суспензию инкубировали 10 мин в присутствии [³H]НА ($5 \cdot 10^{-8}$ М) и затем по 1 мл переносили в суперфузионные камеры на миллиметровые мембранные фильтры с диаметром пор 0,65 мкм, тип ДА. Высвобождение [³H]НА изучали супер-

фузионным методом Raiteri и соавт. [9]. Суперфузию проводили со скоростью 1 мл/мин. Степень высвобождения (i) [^3H]НА рассчитывали по отношению радиоактивности суперфузионной среды к оставшейся радиоактивности синапсом. Захват [^3H]НА изучали путем переноса и последующей промывки 0,15 М NaCl инкубированной суспензии ($0,77 \pm 0,07$ мг белка/мл) на миллипоровые фильтры. Параллельно проводили инкубацию синапсом при 0° для вычитания неспецифического захвата. Радиоактивность синапсом и среды измеряли после добавления 0,5 мл этанола и 10 мл диоксанового сцинтиллятора Брея на жидкостном сцинтилляционном счетчике «Intertechnique-SL-4221» (Франция). Подробности методов исследований описаны в работе Армениян и соавт. [10].

Синапсомы инкубировали в Krebs-бикарбонатном буфере pH 7,2—7,4 со следующим составом (в mM): NaCl—113; KCl—4,75; KH_2PO_4 —1,2; MgSO_4 —1,2; NaHCO_3 —25; CaCl_2 —2,5, глюкоза—11,5. Для предотвращения распада НА в буфер добавляли ипразид ($6 \cdot 10^{-4}$ М) и витамин С ($1,14 \cdot 10^{-3}$ М; «Sigma», США). В K^+ -обогащенной среде (40 mM) изотоничность среды сохраняли изомолярным замещением NaCl на KCl.

Использовали [^3H]НА (39 Ки/мМ; «Amersham», Англия). Белок определяли по методу Lowry и соавт. [11]. Статистическую обработку результатов проводили с использованием t -критерия Стьюдента.

Выделен нС из состава низкомолекулярных соединений уксуснокислого экстракта обезжиренной гипоталамической ткани. Препарат очищен по разработанной схеме, включающей ИОХ на ДЭАЭ-ц, гель-фильтрацию через сефадекс G-23, распределительную хроматографию на бумаге FN-11 в системе растворителей бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:1) и повторную гель-фильтрацию через глицидинамидированный сефадекс [12].

За единицу активности (Е) нС принято то количество препарата, которое ингибирует 1 мЕ ФДЭ сАМР гомогената мозга крыс за 1 мин.

Действие различных концентраций нС на K^+ -вызванное высвобождение [^3H]НА в синапсомах гипоталамической области. После инкубации синапсом в присутствии [^3H]НА определенное количество суспензии переносили в суперфузионные камеры и промывали нормальным буфером, а с 12-й мин добавляли K^+ -обогащенную среду (40 mM), при этом высвобождение [^3H]НА усиливалось на 175% (рис., контроль). На фоне усиленного высвобождения [^3H]НА изучали концентрационную зависимость действия нС. Исследовали влияние нС в концентрациях 1,5; 3; 7; 14; 28 и 56 мЕ/мл.

Результаты проведенных исследований показали, что самая низкая—1,5 мЕ/мл (рис., а—2) и самая высокая—56 мЕ/мл (рис., б—2) концентрации нС не вызвали статистически достоверных изменений K^+ -вызванного высвобождения [^3H]НА из синапсом.

Примечательно, что остальные используемые концентрации нС подавляли K^+ -вызванное высвобождение [^3H]НА. Как показывают данные, представленные на рисунке, статистически достоверное подавление от концентраций нС 3, 7 и 28 мЕ/мл (рис., в—2, г—2, е—2) составляло

42%. тогда как от 14 мЕ/мл—50% (рис., д—2) по сравнению с контролем.

Таким образом, полученные нами результаты показали, что порог действия нС на K^+ -вызванное высвобождение $[^3H]НА$ в гипоталамических синапсом обнаруживается, начиная с концентрации 3 мЕ/мл, достигает максимума при концентрации 14 мЕ/мл и далее наблюдается постепенное уменьшение его эффекта.

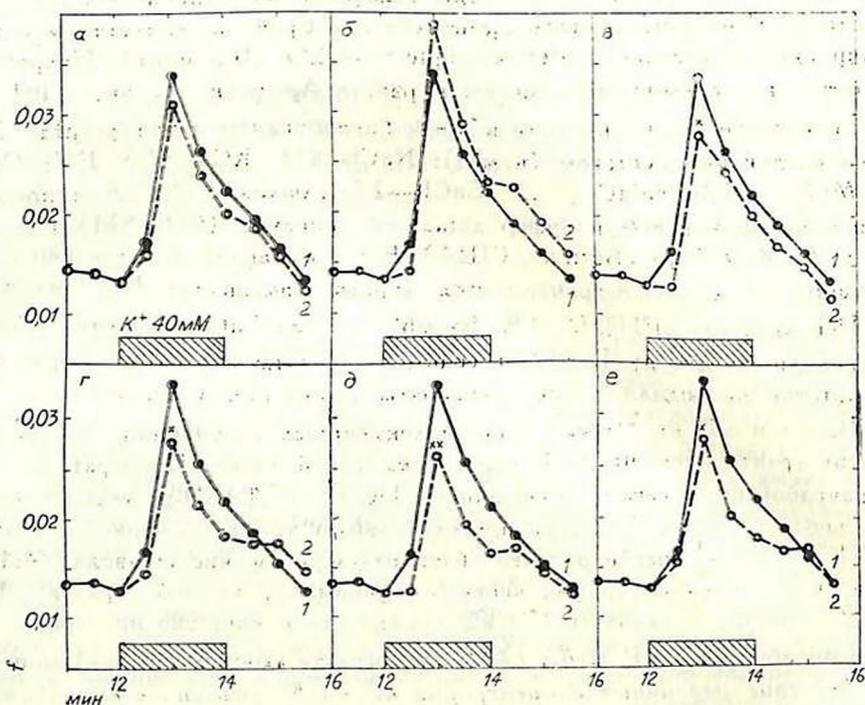


Рис. Действие различных концентраций нейрогормона «С» на K^+ -вызванное высвобождение $[^3H]$ норадреналина из синапсом гипоталамической области. По оси абсциссе—время суперфузии в мин, по оси ординат—степень высвобождения $[^3H]$ норадреналина (1). 1—контроль; 2—нейрогормон «С»: а—1,5 мЕ/мл; б—56 мЕ/мл; в—3 мЕ/мл; г—7 мЕ/мл; д—14 мЕ/мл; е—28 мЕ/мл. Нейрогормон «С» добавлен одновременно с K^+ -обогащенной (40 мМ) средой. Средние данные 5–9 опытов; стандартное отклонение не более 10%; * $p < 0,05$. ** $p < 0,01$

Влияние различных концентраций нС на специфический захват $[^3H]НА$ синапсом гипоталамической области. Результаты исследований специфического захвата $[^3H]НА$ синапсом гипоталамической области исследовали под действием нС в концентрациях 7, 14, 28 и 56 мЕ/мл.

Как видно из таблицы, все используемые нами концентрации нС не оказали заметного действия на специфический захват $[^3H]НА$.

Таким образом, как следует из полученных данных, нС (3–28 мЕ/мл) подавляет K^+ -вызванное высвобождение $[^3H]НА$ и не оказывает дейст-

вия на специфический захват его синапсосомами гипоталамической области. На основании результатов исследований, проведенных по изучению влияния кардиоактивных соединений (нейрогормоны «К», «Г» и гипоталамический гексапептид) на K^+ -вызванное высвобождение $[^3H]HA$.

Таблица

Действие разных концентраций нейрогормона «С» на захват $[^3H]$ норадреналина (в нкМ/мг белка) синапсосомами гипоталамической области мозга крыс

Контроль	Нейрогормон «С»			
	7 мЕ/мл	14 мЕ/мл	28 мЕ/мл	56 мЕ/мл
2,74±0,51 (4)	2,79±0,38 (4)	3,30±0,29 (4)	2,96±0,37 (4)	2,94±0,20 (4)

Примечание. В скобках указано количество опытов.

можно сделать вывод, что нейрогормон «К» стимулирует, а нейрогормон «Г», в зависимости от концентрации, подавляет или стимулирует K^+ -вызванное высвобождение $[^3H]HA$ [13], тогда как кардиоактивный гексапептид (10^{-5} — 10^{-7} М) подавляет этот процесс [14].

Сопоставляя полученные нами результаты, можно предположить, что нС, как и вышеупомянутые кардиоактивные нейрогормоны, участвуют в процессе пресинаптической регуляции высвобождения HA в гипоталамической области мозга.

THE EFFECT OF NEUROHORMONE «С» ON THE RELEASE AND UPTAKE OF $[^3H]$ -NORADRENALINE IN RAT BRAIN HYPOTHALAMIC SYNAPTOSOMES

ARAKELYAN L. N., ARMENYAN A. R., SRAPIONYAN R. M.,

KARAPETYAN R. H., SAHAKYAN F. M., SAHAKYAN S. A., GALOYAN A. A.

Institute of Biochemistry, Academy of Sciences of the Armenian SSR,
Yerevan

The effect of different concentrations of neurohormone «С» on the K^+ -evoked release and uptake of 3H -noradrenaline was studied with rat hypothalamic synaptosomes. The data obtained show, that neurohormone «С» in concentrations 3, 7, 14 and 28 $\mu U/ml$ inhibits K^+ -evoked release of 3H -noradrenaline, whereas in concentrations of 1, 5 and 56 $\mu U/ml$ it had no effect on this process. Neurohormone «С» in all concentrations tested had no effect on the uptake of 3H -noradrenaline by hypothalamic synaptosomes. Our results suggest that neurohormone «С» plays a role in presynaptic regulation affecting the release of noradrenaline in the rat brain hypothalamic region.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галоян А. А. Докл. АН АрмССР, т. 34, с. 109—151, 1962.
2. Галоян А. А. Докл. АН АрмССР, т. 38, с. 305—308, 1964.
3. *Staronian R. M., Sahakian F. M., Galoyan A. A.* Neurochem. Res., v. 6, p. 1299—1307, 1981.
4. Абрамян С. С., Ростомян М. А., Галоян А. А. Кровообращение, т. 8, с. 13—17, 1975.
5. Галоян А. А., Алексанян С. С. Докл. АН АрмССР, т. 58, с. 183—187, 1974.
6. Галоян А. А. Вопр. биохимии мозга, Изд-во АН АрмССР, т. 13, с. 9—38, 1978.
7. Галоян А. А., Гурвиц Б. Я., Погосян М. А. Бюл. эксперим. биол. и мед. т. 83, с. 691—693, 1977.
8. *Hajos F.* Brain Res., v. 93, p. 485—489, 1975.
9. *Raiteri M., Angelini F., Levi G.* Eur. J. Pharmacol., v. 25, p. 411—414, 1974.
10. Арменян А. Р., Чифликян М. Д., Бунятыян Г. Х. Вопр. биохимии мозга, Изд-во АН АрмССР, т. 14, с. 135—142, 1980.
11. *Lowry O. H., Rosebrough N. Y., Farr A. L., Randall R. J.* J. Biol. Chem., v. 193, p. 265—275, 1951.
12. Галоян А. А., Срапионян Р. М., Карапетян Р. О., Саакян С. А. Докл. АН АрмССР, т. 67, с. 176—179, 1978.
13. Арменян А. Р., Аракелян Л. Н., Срапионян Р. М., Карапетян Р. О., Саакян Ф. М., Саакян С. А., Галоян А. А. Нейрохимия, т. 6, с. 193—198, 1987.
14. Арменян А. Р., Аракелян Л. Н., Санасарян А. А., Миджоян Е. О., Галоян А. А. Нейрохимия, т. 5, с. 218—219, 1986.

Поступила 9. VII 1987г