

УДК 615.214.22.015.4.07

## ГАРМАН МОДУЛИРУЕТ ФУНКЦИЮ МЕЛАТОНИН-ОПИОИДНОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА, УЧАСТВУЮЩЕЙ В МЕХАНИЗМЕ РАЗВИТИЯ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ШОКА

Самсоненко Р.А., Долженко А.Т. Ельский В.Н.,  
Титиевский А.В.

*Центральная научно-исследовательская  
лаборатория медицинского института, Донецк*

В опытах на интактных белых крысах линии *Wistar* и крысах в условиях травматического шока установлено, что  $\beta$ -карболины (гарман и 3,4-тетраметиленгарман; С-383) в дозах 10 и 30 мг/кг соответственно модулируют процесс высвобождения опиоидных пептидов (Leu-энкефалина и  $\beta$ -эндорфина) в плазму крови. Повышая содержание опиоидных пептидов в плазме крови интактных животных,  $\beta$ -карболины способствуют значительному снижению опиоидов в условиях травматического шока. Вместе с тем, гарманы повышают содержание мелатонина в ткани эпифиза интактных и подвергнутых травматическому воздействию крыс. Обсуждается участие циклических нуклеотидов (сАМР и сGMP) в способности  $\beta$ -карболинов модулировать функцию мелатонин-опиоидной системы мозга крыс.

\* \* \*

Этиловый эфир  $\beta$ -карболин-3-карбоновой кислоты [1], гарман [2], норгарман [3] и некоторые другие  $\beta$ -карболины [4] конкурентно ингибируют специфическое связывание радиоактивных бензодиазепинов с мембранными препаратами или гомогенатами мозга. Поскольку  $\beta$ -карболин-3-карбоновая кислота и гарман являются естественными метаболитами в организме человека и животных, они рассматриваются в качестве возможных эндогенных лигандов бензодиазепиновых рецепторов. Ранее сообщалось [5,6], что некоторые производные  $\beta$ -карболина проявляют свойства потенциальных транквилизаторов, а гарман ( $10^{-7}$ — $10^{-5}$ М), подобно хлордиазепоксиду ( $10^{-6}$ — $10^{-3}$ М), потенцирует влияние ГАМК на нейроны спинного мозга и усиливает пресинаптическое торможение первичных афферентов [7], повышает импульсное высвобождение ГАМК при электростимуляции срезов мозга крыс [8].

Стресс-протективную активность обнаруживает и мелатонин, основной гормон эпифиза, участвующий в функционировании синапсов [9] и поддерживающий нейроэндокринный гомеостаз, имеющий существенное значение в развитии тяжелого стресса и травматического шока. Антистрессорный эффект мелатонина, по-видимому, реализуется с участием опиоид-

ной и ГАМК-ергической систем мозга, поскольку налтрексон, функциональный антагонист опиоидов, предупреждает стресс-протективное действие мелатонина [10], а сам мелатонин в радиолигандных экспериментах повышает сродство ГАМК и диазепамы к местам специфического связывания [11].

В настоящей работе показано модулирующее влияние  $\beta$ -карболинов— гармана и 3,4-тетраметилгармана (соединение С-383) на функцию мелатонин-опиоидной системы животных в условиях травматического шока.

### Материалы и методы

Опыты выполнены на крысах-самцах линии *Wistar* массой  $200 \pm 20$  г, находящихся на обычном вскармливании и питьевом режиме. У интактных животных и крыс, подвергнутых травматическому воздействию, в гомогенатах эпифиза определяли содержание мелатонина, в гомогенатах гипоталамической области мозга и надпочечников — содержание сАМР и сGMP, а в плазме крови—содержание опиоидных пептидов (Leu-энкефалина  $\beta$ -эндорфина). Исследования выполнены методом радиоиммунного анализа с использованием радиоиммунных наборов фирмы INCSTAR Corp., США (Leu-энкефалин и  $\beta$ -эндорфин, мелатонин) и Института радиоизотопов, ЧССР (сАМР, сGMP). Травматический шок моделировали компрессией мягких тканей задних конечностей в течение 6 ч, сила компрессии составляла  $4 \text{ кг/см}^2$ , декомпрессионный период длился 30 мин. Животных декапитировали после 30-минутного декомпрессионного периода. Гарман («Sigma», США) и 3,4-тетраметилгарман (С-383; синтезирован в Институте физико-органической химии и углехимии АН УССР, Донецк [12]) вводили внутривентриально в дозах 10 и 30 мг/кг соответственно за 10 мин до снятия компрессии. Интактным животным вводили внутривентриально изотонический раствор хлорида натрия в таком же объеме. Обработку полученных данных проводили методами непараметрической статистики.

### Результаты и обсуждение

Установлено, что в эректильной фазе развития шоковой реакции через 30 мин декомпрессии содержание в плазме крови Leu-энкефалин и  $\beta$ -эндорфина незначительно повышалось по сравнению с содержанием пептидов в плазме крови интактных животных (табл.1). Через 24 ч декомпрессии уровень Leu-энкефалина и  $\beta$ -эндорфина практически соответствовал содержанию опиоидных пептидов в плазме крови интактных крыс. Гарман и 3,4-тетраметилгарман (С-383), введенные интактным животным, приводили к усилению высвобождения в кровь Leu-энкефалина и отчасти  $\beta$ -эндорфина. Эффективность соединения С-383 как либератора опиоидных пептидов превышала активность гармана. Вместе с тем,  $\beta$ -карболины, введенные за 10 мин до снятия компрессии, способствовали значи-

тельному понижению содержания опиоидных пептидов в плазме крови крыс, подвергнутых травматическому воздействию (табл.1). Способность  $\beta$ -карболинов повышать содержание Leu-энкефалина и  $\beta$ -эндорфина в плазме крови интактных животных и существенно понижать содержание опиоидов в условиях травматического шока свидетельствует о модулирующем влиянии гарманов на опиоидную систему. Модуляция функции опиоидной системы  $\beta$ -карболинами определяется высоким сродством гарманов к опиатным рецепторам, выявленным в радиолигандных экспериментах с мембранными фрагментами нейронов мозга крыс. Ингибирующие на 50% связывание [ $^3$ H]морфина с опиатными рецепторами концентрации гармана ( $IC_{50}$ ) были в 4 раза меньше, чем  $IC_{50}$ , угнетающие связывание радиолигандов с дофаминовыми и серотониновыми рецепторами [13].

Таблица 1

Влияние гармана и 3,4-тетраметилгармана (С-383) на содержание опиоидных пептидов в плазме крови интактных и подвергнутых травматическому воздействию крыс ( $M \pm m$ )

Серия экспериментов	Число опытов	Содержание в плазме крови (нг/мл)	
		Leu-энкефалина	$\beta$ -эндорфина
Интактные + изотонический раствор	10	622,32 $\pm$ 29,99	77,45 $\pm$ 5,09
Интактные + гарман	7	926,46 $\pm$ 32,61	81,24 $\pm$ 3,96
Интактные + С-383	7	1159,92 $\pm$ 198,04*	83,14 $\pm$ 4,32*
Шок	10	752,72 $\pm$ 36,27*	84,02 $\pm$ 3,87*
Шок + гарман	7	506,28 $\pm$ 42,12**	60,75 $\pm$ 4,18**
Шок + С-383	7	473,79 $\pm$ 68,06**	53,64 $\pm$ 4,73**

Примечание. \*Статистически значимые различия с контролем при  $p < 0,05$ ; \*\*различия статистически достоверны в сравнении с шоком ( $p < 0,01$ ).

Однонаправленное действие гарманы оказывают как на содержание опиоидных пептидов в плазме крови интактных крыс, так и на содержание мелатонина, определяемого в ткани эпифиза. Однако эта тенденция в действии  $\beta$ -карболинов не проявляется в условиях травматического шока. В табл.2 представлены данные, отражающие влияние гармана и его производного С-383 на содержание мелатонина в эпифизе интактных крыс и у животных в состоянии шока. Уровень мелатонина в ткани эпифиза интактных животных составлял 1700 и 2978,6 пг/мг ткани и повышался до 2300 и 3318,1 пг/мг ткани при шоковом воздействии.

Внутрибрюшинное введение гармана (10 мг/кг) или С-383 в дозе 30 мг/кг интактному животному приводило к значительному (в 2—9 раз) повышению содержания мелатонина в ткани эпифиза. Некоторую способность повышать содержание мелатонина гарман и 3,4-тетраметилгарман сохраняют в условиях развившейся шоковой реакции. Изменение содержания мелатонина, опосредуемое воздействием гарманов, коррелирует со способностью этих веществ понижать количество опиоидных пептидов в плазме крови животных, находящихся в состоянии травматического шока. На функциональную связь между активностью опиоидной системы и

функционированием эпифиза указывает также способность налтрексона, антагониста опиоидных рецепторов, предупреждать эффекты мелатонина [10]. Модулирующее мелатонин-опиоидную систему влияние  $\beta$ -карболинов определяется, по-видимому, свойствами последних как агонистов опиоидных рецепторов [3] и общим с мелатонином нейрехимическим путем синтеза гарманов в ЦНС [14].

Таблица 2  
Влияние гармана и соединения С-383 на содержание мелатонина в эпифизе (пг/мг ткани) интактных и подвергнутых шоковому воздействию крыс ( $M \pm m$ )

Серии экспериментов	Число опытов	Гарман	Число опытов	С-383
Интактные + изотонический раствор	9	1700 $\pm$ 52,0	7	2978,6 $\pm$ 284,1
Интактные + препарат	10	15200 $\pm$ 55,0*	12	3933,0 $\pm$ 440,2*
Шок	7	2300 $\pm$ 430,4*	8	3318,1 $\pm$ 220,8*
Шок + препарат	10	4700 $\pm$ 276,3**	9	3395,3 $\pm$ 192,4**

Примечание. \*Различия статистически достоверны с контролем ( $p < 0,05$ ); \*\*различия статистически значимы в сравнении с шоком ( $p < 0,01$ ).

Известно, что универсальный механизм регуляции высвобождения медиаторов, нейромодуляторов и других биологически активных веществ осуществляется при участии циклических нуклеотидов [15]. В табл.3 представлены данные специальной серии опытов, характеризующие влияние 3,4-тетраметилгармана (С-383) на содержание циклических нуклеотидов (сАМР, сGMP) в гомогенатах надпочечников и гипоталамуса интактных и подвергнутых тяжелому стрессовому воздействию крыс. Результаты исследований показали, что травматическое воздействие не влияло на содержание сАМР и сGMP в гипоталамусе по сравнению с контролем, но снижало его в надпочечниках. Предварительное введение животным С-383 (30 мг/кг) способствовало повышению уровня сАМР в гипоталамусе и надпочечниках, одновременно повышая содержание сGMP в гомогенатах гипоталамуса и понижая его в надпочечниках. Еще более выраженные изменения уровня сАМР проявлялись у животных, которым 3,4-тетраметилгарман вводили за 10 мин до снятия компрессии.

Таким образом, изменение уровня опиоидных пептидов в плазме крови и мелатонина в ткани эпифиза, обусловленное гарманом, сопровождается изменением содержания циклических нуклеотидов, что подтверждает ранее полученные данные [3].

Таблица 3

Влияние 3,4-тетраметилгармана (С-383) на содержание циклических нуклеотидов в гомогенатах гипоталамуса и надпочечников интактных и подвергнутых травматическому воздействию крыс ( $M \pm m$ )

Серия экспериментов	Число опытов	Содержание сАМР (пм/г)		Содержание сГМР (пм/г)	
		гипоталамус	надпочечники	гипоталамус	надпочечники
Интактные + изотонический раствор	7	155,14 ± 25,84	50,97 ± 7,36	0,657 ± 0,130	0,12 ± 0,18
Интактные + С-383	10	182,10 ± 4,60*	65,84 ± 5,20*	0,864 ± 0,150*	0,69 ± 0,20*
Шок	7	152,83 ± 28,74	31,70 ± 4,37	0,695 ± 0,120	0,57 ± 0,09
Шок + С-383	7	247,50 ± 2,50**	77,08 ± 6,18**	1,540 ± 0,330**	0,31 ± 0,06**

**Примечание.** \*Статистически значимые различия с контролем при  $p=0,05$ ; \*\*различия статистически достоверны в сравнении с шоком ( $p<0,001$ ).

Сопоставление полученных в этой работе материалов с имеющимися данными приводит к заключению, что при развитии экспериментального травматического шока происходит изменение функционального состояния мелатонин-опиоидной системы, функция которой модулируется гарманом, предполагаемым эндогенным лигандом бензодиазепиновых рецепторов.

### HARMANE MODULATES THE FUNCTION OF MELATONIN-OPIOID BRAIN SYSTEM WHICH PARTICIPATES IN TRAUMATIC SHOCK DEVELOPMENT

Samsonenko R.A., Dolzhenco A.T., Yelsky V.N.,  
Titievsky A.V.

Medical Institute, Donetsk

Experiments with albino Wistar rats under normal conditions and after traumatic shock have demonstrated that beta-carbolines (harmane, 3,4-tetramethylenharmane and С-383) at doses of 10 and 30 mg/kg modulate the secretion of opioid peptides (leu-enkephalin and beta-endorphin) to blood plasma. In intact animals beta-carbolines increase the opioids peptide level in blood plasma, whereas they greatly reduce the opioid level after traumatic shock. Concomitantly harmanes increase the level of melatonin in the pineal tissue of intact and shocked rats. Participation of cyclic nucleotides (сАМР and сГМР) in the modulating effect of beta-carbolines on the melatonin- opioid system of rat brain is discussed.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Braestrup C., Nielson M., Olson S.-E. Proc.Nat.Acad.Sci.USA, Biol.Sci., v.77, p.2288—2292, 1980.
2. Rommelpacher H., Nanz C., Borbe H. Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmak., Bd.314.

S.97—100, 1980.

3. Airaksinen M.M., Mikkonen E. Med. Biol., v.58, p.341—344, 1980.
4. Rommelspacher H., Straus S., Lindemann J. FEBS Lett., v.109, p.209—212, 1980.
5. Долженко А.Т., Комиссаров И.В. Тезисы докл. всесоюз. конф. «Химия, биохимия и фармакология индола», с.163, Тбилиси, 1981.
6. Долженко А.Т., Дуленко В.И., Зиньковская Л.Я., Комиссаров И.В. Хим.-фармацевт. журн., N 12, с.66—68, 1982.
7. Комиссаров И.В., Абрамян И.И. Бюл.эксперим.биол. и мед., N 10, с.61—63, 1983.
8. Долженко А.Т., Комиссаров И.В. Бюл.эксперим.биол. и мед., N 10, с.446—448, 1984.
9. Арушанян Э.Б., Ованесов К.Б. Фармакология и токсикология, N 2, с.38—42, 1988.
10. Maestroni G.J.M., Pierpaoli W. Neuroendocrinol.Lett., v.9, p.285, 1987.
11. Niels L.P., Pickering D.S., Arciszewski M.A.J. Neural. Transmiss., v.70, p.117—124, 1987.
12. Комиссаров И.В., Дуленко В.И., Долженко А.Т., Зиньковская Л.Я., Николюкин Ю.А., Нижарадзе М.Э., Образцова О.Г., Кибальный А.В. Хим.-фармацевт.журн., N3, с.172—176, 1985.
13. Borbe H.O., Wollert U., Muller W.E., Fehske K.J., Nanz C., Rommelspacher H. Pharm. Biochem. and Behav., v.14, p.693—699, 1981.
14. Meizler D.E. Biochemistry. The chemical reaction of living cells. New York, San Francisco, London, Academic Press, 1977.
15. Глебов Р.Н., Крыжановский Г.Н. Функциональная биохимия синапсов, М., Медицина, 1978.

Поступила 26. 02. 1988