



КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 612.822.1

ДЕЙСТВИЕ НЕЙРОГОРМОНА «С» НА СИНТЕЗ, ЗАХВАТ И ВЫСВОБОЖДЕНИЕ КАТЕХОЛАМИНОВ В МОЗГУ КРЫС

ГАЛОЯН А. А., ЧИФЛИКЯН М. Д., МУРАДЯН М. Ш., ЕДИГАРЯН А. К.,
АБРАМЯН С. С.

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

В течение ряда лет нами проводятся исследования механизмов образования и действия новой группы органотропных нейрогормонов—нейропептидов, продуцируемых в магнoцеллюлярных ядрах гипоталамуса [1—3]. В частности, показано, что кардиотропный нейрогормон «С» оказывает влияние на сердечное кровообращение путем ингибирования фосфодиэстеразы (ФДЭ) циклических нуклеотидов [4]. Нейрогормон «С» изменяет сродство ряда важных ферментов и белков к ионам кальция (неопубликованные данные), что отражается на метаболизме циклических нуклеотидов. Исходя из этого, можно предположить участие катехоламинов в реализации действия нейрогормона «С» на обменные процессы и функции мозга и сердца.

В настоящем сообщении приводятся данные о действии нейрогормона «С» на синтез ^{14}C -дофамина и ^{14}C -норадреналина из ^{14}C -тирозина в срезах гипоталамуса и полосатого тела мозга крыс, а также на захват ^3H -дофамина и ^3H -норадреналина и на K^+ -вызванное высвобождение ^3H -дофамина.

Белых крыс массой 180—200 г декапитировали, извлекали мозг и на льду изолировали гипоталамическую область и полосатое тело.

При исследовании синтеза ^{14}C -дофамина и ^{14}C -норадреналина навески срезов (50 мг) преинкубировали в Кребс-бикарбонатном буфере, содержащем ингибитор МАО—ипразид ($3.6 \cdot 10^{-4}\text{M}$), АТР ($9 \cdot 10^{-5}\text{M}$) при 37° , pH—7.2, аэрируемом смесью O_2 с CO_2 (95:5%) в течение 20 мин, затем инкубировали 30 мин в присутствии нейрогормона «С» и еще 30 мин с добавлением радиоактивного предшественника синтеза катехоламинов— ^{14}C -тирозина в концентрации $3.3 \cdot 10^{-5}\text{M}$ (У. А. 333,3 мКи/ммоль). Далее срезы гомогенизировали в 5 мл холодной 0,2 М HClO_4 с 0,5%-ЭДТА. Через 30 мин пробы центрифугировали в течение 20 мин при 9000 g и супернатант нейтрализовали 3 н. Na_2CO_3 до pH 6—6,5. Хроматографическое разделение в нем катехоламинов проводили на колонках с ионообменной смолой Dowex $50\text{w} \times 16$ (20—50 меш) и $50\text{w} \times 8$ (400 меш) в натриевой форме [5, 6]. Расчет скорости синтеза катехоламинов проводили по уравнению:

$$V = \frac{A \cdot 1000 \cdot 2}{B \cdot 2 \cdot 10^6}$$

где V —скорость синтеза, выраженная в моль/г свежей ткани/1 ч инкубации; A —содержание исследуемого вещества, выраженное в распадах в мин; B —масса ткани в мг; B —величина $U. A.$ в мКл/ммоль.

При исследовании захвата 3H -норадреналина и 3H -дофамина срезы гипоталамуса и полосатого тела мозга (15 мг) инкубировали 5 мин в Кребс-бикарбонатном буфере при 37 и 0°, 30 мин—с 3H -норадреналином (10–7 М, $U. A.$ 35 Ки/ммоль) или с 3H -дофамином (10–7 М, $U. A.$ 9,3 Ки/ммоль) в присутствии нейрогормона «С».

При исследовании действия нейрогормона «С» на K^+ -вызванное высвобождение 3H -дофамина срезы полосатого тела мозга (15 мг) инкубировали 30 мин в присутствии 3H -дофамина (10–7 М) при 37° под непрерывной струей смеси O_2 с CO_2 , затем промывали 5 мл 0,9 М NaCl, далее 20 мин—буфером со скоростью 1 мл/мин. На 26-й мин суперфузии срезов добавляли 40 мМ K^+ с нейрогормоном «С» или без него. Суперфузионные фракции собирали каждые 2 мин. Радиоактивность проб измеряли на сцинтилляционном счетчике «Inter technique 4221» (Франция).

Стандартизацию активности нейрогормона «С» проводили по способности гормона ингибировать ФДЭ сАМР мозга крыс, которую определяли по количеству гидролизованного субстрата 3H -сАМР при его инкубации с ферментом методом восходящей ТСХ на силикагеле [7], модифицированному нами [8]. За единицу активности нейрогормона «С» принимали активность препарата, ингибирующего 1 миллиединицу ФДЭ мозга крыс в мин в мл при 37°.

Исследовали влияние нейрогормона «С» на синтез ^{14}C -дофамина и ^{14}C -норадреналина из ^{14}C -тирозина в гипоталамических срезах в дозах 1–40 миллиединиц/мл. Опыты показали, что наиболее эффективные дозы нейрогормона «С»—1,6 и 16 миллиединиц/мл. Скорость синтеза ^{14}C -дофамина и ^{14}C -норадреналина составляла $3,14 \pm$

Таблица 1

Действие нейрогормона «С» на синтез ^{14}C -дофамина и ^{14}C -норадреналина из С-тирозина в срезах гипоталамуса и полосатого тела мозга крыс

Условия опыта	Гипоталамус		Полосатое тело	
	дофамин $\cdot 10^{-10}$ моль/г/ч	норадреналин $\cdot 10^{-10}$ моль/г/ч	дофамин $\cdot 10^{-10}$ моль/г/ч	норадреналин $\cdot 10^{-10}$ моль/г/ч
Контроль	$3,14 \pm 0,47$ (6)	$3,54 \pm 0,66$ (6)	$4,13 \pm 0,97$ (4)	$2,94 \pm 0,66$ (6)
Нейрогормон «С» 1,6 миллиединицы/мл	$22,9^* \pm 3,2$ (6)	$22,8^* \pm 4,8$ (6)	$7,08^* \pm 0,87$ (5)	$6,19^* \pm 0,55$ (5)
2 миллиединицы/мл				
16 миллиединицы/мл	$0,53^* \pm 0,024$ (3)	$0,48^* \pm 0,043$ (3)	$69,7^* \pm 18,5$ (5)	$142,3^* \pm 43,6$ (5)
20 миллиединицы/мл				

Примечание. В скобках—число опытов. $p^* < 0,001$

$0,47 \cdot 10^{-10}$ моль/г/ч и $3,54 \pm 0,66 \cdot 10^{-10}$ моль/г/ч (табл. 1). Нейрогормон «С» (1,6 миллиединицы/мл) увеличивал скорости синтеза дофамина и норадреналина в 7,3 и 6,4 раза соответственно. С увеличением его дозы (16 миллиединицы/мл) наблюдалось торможение синтеза как дофамина, так и норадреналина в 7,4 и 5,9 раза соответственно. При изучении синтеза ^{14}C -дофамина и ^{14}C -норадреналина под действием нейрогормона «С» в срезах полосатого тела мозга крыс было выявлено его стимулирующее дозозависимое влияние на эти

процессы. Установили, что нейрогормон «С» в дозах 2 и 20 миллиединиц/мл увеличивал синтез ^{14}C -дофамина в 1,7 и 16 раз, а синтез ^{14}C -норадреналина—в 2,1 и 48 раз соответственно (табл. 1).

Для выяснения функциональной значимости этих изменений в следующей серии опытов изучали действие нейрогормона «С» на захват ^3H -дофамина и ^3H -норадреналина в срезах гипоталамуса и полосатого тела мозга крыс. Было установлено, что захват ^3H -дофамина в гипоталамических срезах был гораздо менее интенсивен, чем в срезах полосатого тела, что соответствует большей плотности распределения дофаминергических нервных окончаний в полосатом теле [9]. Нейрогормон «С» (2 и 20 миллиединиц/мл) не влиял на захват ^3H -дофамина в срезах гипоталамуса и полосатого тела, а также на захват ^3H -норадреналина в гипоталамических срезах.

В серии опытов со срезами полосатого тела, предварительно инкубированными с ^3H -дофамином, изучали действие нейрогормона «С» на K^+ -вызываемое высвобождение нейротрансмиттера. Показано, что 40 мМ K^+ вызывает увеличение высвобождения ^3H -дофамина на 153% относительно спонтанного высвобождения (табл. 2). Нейрогормон «С» (2 миллиединицы/мл) вызывает статистически недостоверное увеличение K^+ -вызываемого высвобождения ^3H -дофамина на 17%, а в дозе 20 миллиединиц/мл—ингибирование этого процесса на 47% ($p < 0,05$). На основании этих данных можно предполагать, что нейрогормон «С» модулирует дофаминергическую трансмиссию в полосатом теле мозга крыс.

Таблица 2

Действие нейрогормона «С» на K^+ -вызываемое высвобождение ^3H -дофамина из срезов полосатого тела мозга крыс.

Условия опытов	^3H -дофамин распады/мин/фракцию
Спонтанное высвобождение	2218 $\pm$ 214 (9)
40 мМ K^+	5612 $\pm$ 721 (3)
40 мМ K^+ + нейрогормон «С» (2 миллиединицы/мл)	6601 $\pm$ 380 (2)
40 мМ K^+ + нейрогормон «С» (20 миллиединиц/мл)	2975 $\pm$ 192 (4)

Примечание. В скобках—количество опытов. * $p < 0,05$

В литературе имеются многочисленные данные относительно прямой или опосредованной модуляции дофаминергической трансмиссии в полосатом теле мозга крыс на пресинаптическом уровне [10]. Однако надо заметить, что все возможные нейротрансмиттеры, за исключением серотонина [11], увеличивают как спонтанное, так и вызванное высвобождение дофамина в срезах полосатого тела мозга крыс.

Значительный интерес представляют полученные нами результаты, свидетельствующие об увеличении синтеза норадреналина под действием нейрогормона «С» в полосатом теле мозга крыс, для которого при высокой плотности β -адренергических рецепторов [12] характерна слабая норадренергическая иннервация [9, 13].

Сопоставляя данные относительно действия нейрогормона «С» на синтез, захват и высвобождение катехоламинов, трудно говорить о кор-

реляции этих процессов. Однако полученные результаты дают основание предполагать, что между нейрогормоном «С» и биосинтезом катехоламинов в некоторых структурах мозга существуют определенные функциональные и биохимические взаимоотношения, направленные на регуляцию функций эндокринных и висцеральных органов. Для выяснения молекулярных механизмов столь разительного усиления биосинтеза норадреналина и дофамина как в полосатом теле, так и в гипоталамических ядрах необходимо исследовать скорость обновления катехоламинов под действием нейрогормона «С», а также биосинтез катехоламинов в условиях *in vivo*.

ACTION OF NEUROHORMONE „C“ ON THE SYNTHESIS, UPTAKE AND RELEASE OF CATECHOLAMINES IN RAT BRAIN

GALOYAN A. A., CHIFLIKIAN M. D., MURADIAN M. SH.,
EDIGARIAN A. K., ABRAHAMIAN S. S.

Institute of Biochemistry, Arm. SSR Academy of Sciences, Yerevan

Data obtained indicate that neurohormone „C“ causes a dose-dependent different alteration in the rate of synthesis of ^{14}C -dopamine and ^{14}C -noradrenaline from ^{14}C -tyrosine in the hypothalamic slices. In the striatal slices a stimulation of catecholamines synthesis is observed. We found that neurohormone „C“ does not alter dopamine and noradrenaline uptake in striatal and hypothalamic slices. It has been shown that neurohormone „C“ decreases K^+ -evoked release of dopamine from striatal slices in dose-dependent manner. It may be proposed that neurohormone „C“ plays an important role in the regulation of catecholamines biosynthesis in striatum and hypothalamus.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Галоян А. А. *Вопр. биохимии мозга*, Ереван, Изд. АН АрмССР, т. 13 с. 9—14, 1978.
2. Galoyan A. A. *Ergebnisse der experimentellen Med.*, v. 22, p. 99 1878.
3. Galoyan A., Srapionian R. *Neurochem. Res.*, v. 8, № 12, p. 1511—1535, 1983.
4. Galoyan A. A., Gurvitz B., Saribekian G. A., Kirakosova A. S. *Cyclic Nucleotides and Therapeutic Perspectives* (G. Cehovic, G. A. Robinson eds.), Pergamon Press, N. Y., p. 165—181, 1979.
5. Bertler A., Carlsson A., Rosengren E. *Acta physiol. scand.*, v. 44, p. 273—280, 1958.
6. Волина Е. В., Манухин Б. Н. *Физиол. журн. СССР*, т. 61, № 4, с. 569—574, 1975.
7. Pösch G., Kukovetz W. R. *Life Sci.*, v. 10, p. 133—141, 1971.
8. Гурвиц Б. Я., Сарибекян Г. А., Сомова Е. С., Галоян А. А. *Докл. АН АрмССР*, т. 64, № 5, с. 290—295, 1978.
9. Fuxe K., *Acta physiol. scand., Suppl.*, v. 247, № 61, p. 39—64, 1965.
10. Chesselet M.—F., Cheramy A., Relsine T., Lubetzki C., Glowinski J. *J. Physiol.*, Paris, v. 78, p. 420—425, 1982.
11. Ennis C., Kemp J. D., Cox B. J. *Neurochem.* v. 36, p. 1515—1520, 1981.
12. Bylund D. B., Snyder S. H. *Mol. Pharmacol.*, v. 12, p. 563—580, 1976.
13. Lindvall O., Bjorklund A. *Acta Physiol. Scand., Suppl.* v. 412, p. 1—43, 1974.

Поступила 10. X. 1985.