

АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗА И ВЫСОКОАФФИННЫЙ ЗАХВАТ
ХОЛИНА В СИНАПТОСОМАХ МОЗГА КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ
ТОЛЕРАНТНОСТЬЮ К ЭТАНОЛУ

ЧУМАКОВА О. В., ОСТРОВСКИЙ Ю. М.

Отдел регуляции обмена веществ АН БССР, Гродно

Толерантность ЦНС к этанолу определяется комплексом ферментативных и мембранных процессов. Ведущая роль в них какой-либо нейромедиаторной системы пока не определена, но было обнаружено участие холинергического звена в проявлениях толерантности [1]. Толерантность часто измеряется временем сна, индуцированного этанолом. Связь холинореактивных систем с механизмами сна и наркоза показана в разнообразных экспериментах [2, 3]. В нашей работе у животных с различной толерантностью к этанолу были исследованы такие показатели холинергической системы, как активность АХЭ и высокоаффинный захват холина.

Возможно, различия между высокотолерантными (ВТ) и низкотолерантными (НТ) животными, обусловленные индивидуальной чувствительностью к этанолу, проявляются в момент воздействия последнего. Для проверки этого предположения крыс, отобранных по признаку толерантности [4], исследовали при дополнительном введении этанола.

Беспородным белым крысам-самцам массой 100—150 г вводили внутривенно 25%-ный раствор этанола (4,5 г/кг массы). Длительность сна под действием этанола определяли по выходу из «бокового положения». Животные, находившиеся в состоянии сна менее 60 мин, составляли группу ВТ, более 180 мин — НТ. Животных промежуточной группы (таких было большинство) в опыт не брали. После отбора в течение недели они находились в виварии, не имея контакта с алкоголем. Затем крысам одной опытной группы снова вводили внутривенно раствор этанола в «тест-дозе» за 60 мин до декапитации, животным другой опытной группы за 60 мин до введения этанола вводили глутамин (*per os*, 600 мг/кг массы). Крыс декапитировали, извлекали мозг и выделяли большие полушария, базальные ядра, гиппокамп и гипоталамус, из которых получали синапсомы по методу Hajos [5]. Среда для выделения синапсомы содержала 0,32 М сахарозу, 10 мМ трис-буфер, 0,5 мМ ЭДТА, рН 7,4. Активность АХЭ определяли по методу

Гогиш и соавт. [6], высокоаффинный захват холина измеряли по Simon и соавт. [7], белок определяли по Lowry и соавт. [8].

Через неделю после тестирования ВТ и НТ животные имели незначительные отличия по изучаемым показателям: активность фермента в больших полушариях и базальных ядрах была достоверно выше у ВТ крыс по сравнению с НТ, высокоаффинный захват холина при сравнении крыс двух групп не отличался за исключением гиппокампа (рис. 1, 2).

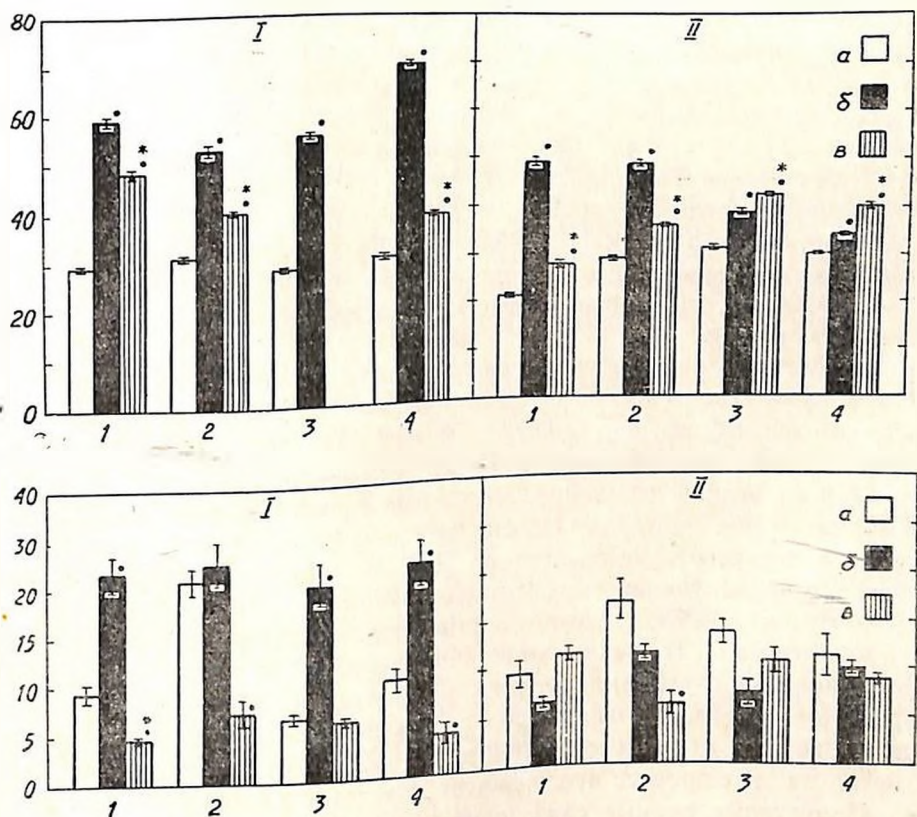


Рис. 1. Изменение активности АХЭ в синапсах некоторых отделов мозга высокотолерантных (I) и низкотолерантных (II) крыс. а—контроль (животные через две недели после тестирования); б—введение этанола; в—введение до этанола глутамин. 1—большие полушария; 2—базальные ядра; 3—гиппокамп; 4—гипоталамус. По оси ординат—активность АХЭ (нмоль тиохоллина/мг белка/мин). * достоверно по отношению к контролю; ** достоверно по отношению к опытам с введением этанола.

Рис. 2. Изменение высокоаффинного захвата холина в синапсах некоторых отделов мозга крыс. По оси ординат—количество холина (пмоль/мг белка/мин). Условные обозначения те же, что и на рис. 1.

Спустя 60 мин после введения этанола активность АХЭ повышалась во всех исследованных отделах мозга как у ВТ, так и у НТ животных (рис. 1), но у ВТ повышение более выражено по сравнению с НТ. Если повышение активности АХЭ свидетельствует о снижении тонуса холинергического синапса из-за возрастания гидролиза АХ, то можно судить в какой-то мере об интенсивности процессов торможения, вероятно, и о глубине наркоза. Снижение холинергического тонуса наблюдается и потому, что этанол оказывает ингибирующий эффект на высвобождение АХ [9—11]. Слабая же активация АХЭ в синапсосомах отделов мозга НТ крыс, возможно, свидетельствует о более медленном, по сравнению с ВТ животными, нарастании торможения холино-реактивных структур и растянутости этого процесса во времени.

Высскоаффинный захват холина значительно возрастал под влиянием этанола во всех отделах мозга ВТ животных (лишь в базальных ядрах повышение было недостоверным). У НТ крыс этот показатель оставался на прежнем уровне (во всех отделах снижение недостоверно) (рис. 2). По данным Hunt, Majchrowicz [12], этанол, добавляемый *in vitro* к инкубационной среде, не оказывал влияния на захват холина, из чего следует, что наблюдаемые нами эффекты при введении этанола опосредованы.

Примечательно наличие четких различий между ВТ и НТ крысами по высокоаффинному захвату холина после нагрузки этанолом. Так как эти сдвиги более или менее сходны по характеру, можно полагать, что у НТ животных они растянуты во времени.

Для коррекции изменений, вызванных введением этанола, был применен глутамин. Ранее нами было показано его нормализующее действие на холинергические показатели [13]. В данном случае у животных обеих групп, получавших до этанола глутамин, наблюдалось изменение активности АХЭ в сторону нормализации, однако уровня контроля она не достигала. В синапсосомах гиппокампа и гипоталамуса НТ крыс под действием глутамин активностью фермента возрастала (рис. 1). При этом отмечалось отчетливое снижение высокоаффинного захвата холина во всех отделах мозга ВТ животных, у НТ крыс глутамин действовал на этот процесс неоднозначно и значительно слабее (рис. 2).

Полученные данные свидетельствуют об имеющихся различиях в холинергических системах НТ и ВТ животных, которые становятся более выраженными после нагрузки этанолом.

ACETYLCHOLINESTERASE AND HIGH AFFINITY CHOLINE UPTAKE IN BRAIN SYNAPTOSOMES OF RATS WITH DIFFERENT ETHANOL TOLERANCE

CHUMAKOVA O. V., OSTROVSKY Yu. M.

Division of Metabolic Regulation, Byelorussian SSR Academy of Sciences,
Grodno

Acetylcholinesterase (AChE) activity and high affinity choline uptake were studied in male albino mongrel rats selected according to
390

ethanol tolerance. Two weeks following the testing period the tolerant animals had a higher activity of AChE in synaptosomes of the large hemispheres and basal ganglia compared to the non-tolerant ones. When comparing the rats of the two groups high affinity choline uptake was similar except that in hippocampus. When these animals were studied after the ethanol load (4.5 g/kg b. w.) the differences present in the cholinergic systems of the tolerant and non-tolerant animals became more pronounced.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Tabakoff B.*—In: *Animal Models in Alcohol Research* (Ed. by Eriksson K., Sinclair J. D., Kitanmaa K.), p. 276--288, London, Acad. Press, 1980.
2. *Пугарева З. Д.*—В кн.: *Биохимия развивающегося мозга*, с. 174—198, М., Медицина, 1972.
3. *Денисенко П. П.*—В кн.: *Роль холинореактивных систем в регуляторных процессах*, с. 13—18, М., Медицина, 1980.
4. *Буров Ю. В., Жуков В. Н.* *Хим.-фармацевт. журн.*, **5**, 42—50, 1979.
5. *Hajos F.* *Brain Res.*, **93**, 435—469, 1975.
6. *Gorun V., Proinov I., Baltescu Y., Barzu O.* *Anal. Biochem.*, **86**, 324—326, 1978.
7. *Simon J. R., Atweh S., Kuhar M. J.* *J. Neurochem.*, **25**, 909—922, 1976.
8. *Lowry O. H.* *J. Biol. Chem.*, **193**, 3, 265—267, 1951.
9. *Carmichael F. J., Israel Y. J.* *Pharmacol. and Exp. Ther.*, **193**, 3, 824—843, 1975.
10. *Israel Y., Carmichael F., Macdonald J. A.*—In: *Alcohol intoxication and Withdrawal Experimental Studies 2*, (ed. m. Gross), с. 55—64, N. Y.—L., 1975.
11. *Morgan E. P., Phillis J. W.* *Gen. Pharmacol.*, **6**, 4, 281—284, 1975.
12. *Hunt W. A., Majchrowicz Ed., Dalton T. K.* *J. Pharm. and Exp. Ther.*, **210**, 259—263, 1979.
13. *Боброва Н. П., Ковальчук В. Г., Чумакова О. В.* *Вопросы мед. химии*, **1**, 103—106, 1982.

Поступила—15. I 1984