



УДК 575.1-577.15

ОСОБЕННОСТИ МАО МОЗГА КРЫС С НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К РАЗВИТИЮ КАТАЛЕПСИИ

ПОПОВА Н. К., ВОЙТЕНКО Н. Н., КОЛПАКОВ В. Г., АЛЕХИНА Т. А.

Институт цитологии и генетики СО АН СССР, Новосибирск

У предрасположенных к катаlepsии крыс наблюдали повышенную активность дезаминирующих бензиламин и дофамин МАО в стволе головного мозга и в полушариях, включающих полосатое тело, в то время как активность дезаминирующей серотонин МАО у этих животных была существенно пониженной только в полушариях. Предрасположенные к катаlepsии крысы отличались от контрольных более высокой V при дезаминировании как бензиламина, так и дофамина в стволе мозга и в полушариях.

Не вызывает сомнения, что в регуляции уровня биогенных аминов в мозгу важную роль играет МАО (моноамин: O_2 оксидоредуктаза К.Ф. 1.4.3.4, МАО). Наиболее существенное участие МАО в регуляции функциональной активности нейромедиаторных систем следует ожидать в случаях, когда окислительное дезаминирование представляет основной, как, например, для серотонина [1] или один из основных, как для дофамина [2], путь катаболизма медиатора. Хотя имеются данные о множественности МАО [3], пока установлено существование двух ее форм, различающихся структурой [4], субстратной и ингибиторной специфичностью [5, 6], МАО типа А и МАО типа Б. В мозгу крыс, как и в мозгу человека, серотонин является специфическим субстратом МАО типа А, дофамин же дезаминируется обеими формами МАО [7].

В настоящее время появляются сведения об изменении активности МАО в мозгу больных такими наследственными заболеваниями, как болезнь Альцгеймера [8], болезнь Хантингтона [9] и шизофрения [10, 11]. Однако при огромном интересе к этим данным, исследование роли МАО в психопатологии и патологических формах поведения резко ограничено невозможностью прижизненного исследования мозга человека и практически отсутствием экспериментальных моделей наследственно закрепленных патологических форм поведения.

В Институте цитологии и генетики СО АН СССР селекционирована [12, 13] линия крыс с резко выраженной предрасположенностью к развитию катаlepsии, которая является одним из синдромов шизофрении. Ка-

телесию связывают с ослаблением дофаминергических влияний стриатопаллидарной системы [14], а нами было установлено [15] участие и серотониновой системы, проявившееся в повышении в стриатуме активности ключевого фермента в синтезе серотонина—триптофангидроксилазы. Изменяются ли при этой патологической форме поведения MAO, катализирующие окислительное дезаминирование как дофамина, так и серотонина, оставалось невыясненным.

Целью настоящего исследования явилось изучение активности MAO типа А и В и кинетики реакции дезаминирования серотонина, дофамина и бензиламина, специфического субстрата MAO типа В, в мозгу у генетически предрасположенных к катаlepsии крыс по сравнению с крысами аутбредной линии *Wistar*, из которой были селекционированы крысы «каталептики».

Материалы и методы

Опыты проводили на аутбредных крысах линии *Wistar* массой 220—250 г, а также крысах той же линии, предварительно прошедших 20—21 поколение направленной селекции на высокую выраженность «спонтанной» катаlepsии [16], в возрасте 4 месяцев. Все крысы имели свободный доступ к корму и воде. Положительной пробой на катаlepsию считали ту, когда с первой попытки животное принимало насильственно приданную позу и поддерживало ее не менее 10 с. Животных, давших положительную пробу на катаlepsию не менее трех раз, считали предрасположенными к катаlepsии.

Крыс декаптитировали. Выделенные на холоду ствол и полушария, включающие стриатум, гомогенизировали в стеклянных гомогенизаторах в 9 объемах 0,32 М сахарозы [17]. Неразделенную фракцию митохондрий (P_2) получали методом дифференциального центрифугирования гомогената в центрифуге К-24 и хранили при -20° до определения активности MAO.

Инкубацию полученных препаратов митохондрий проводили в течение 30 мин в 0,1 М Na^+ , K^+ -фосфатном буфере рН 7,4 при 37° [18] и свободном доступе воздуха. В качестве субстрата MAO использовали серотонин, бензиламин, дофамин. По начальным скоростям (v) реакции при пяти концентрациях субстрата: 0,0625; 0,125; 0,250; 0,500; 1,00 мМ рассчитывали K_m и V [19]. Активность MAO выражена в нмоль аммиака, образованного при дезаминировании субстрата/1 мг белка за 1 мин. Содержание аммиака, образованного при дезаминировании субстрата в процессе инкубации, определяли методом изотермической отгонки в модификации Силаковой и соавт. [20] с последующей несселеризацией и измерением оптической плотности при 410 нм на СФ-26. Белок определяли по методу Lowry. Соотношение форм MAO типа А и В определяли по кривой Джонстона [5] с тирамином (2 мМ) в качестве субстрата при нескольких концентрациях хлоргидрина.

Результаты исследований

Были установлены существенные изменения в активности MAO мозга крыс с выраженной наследственно закрепленной предрасположенностью

к каталепсии (табл. 1), в большей степени затронувшие MAO типа Б. Деаминарующая бензиламин активность MAO в стволе мозга увеличилась в 1,5 раза, вдвое повысилась и активность MAO, деаминарующей дофамин. Изменений в деаминаровании серотонина, специфического субстрата MAO типа А [7], в стволе мозга не обнаружено. Соответственно отношение MAO типа Б/MAO типа А в стволе мозга увеличилось на 40%. Поскольку окислительное деаминарование дофамина осуществляется обеими формами MAO, значительное усиление дофаминдеаминарующей активности MAO в стволе мозга, очевидно, связано с увеличением активности MAO типа Б.

Сходные, хотя и менее выраженные изменения были отмечены в активности MAO типа Б, деаминарующей бензиламин, а также в дофаминдеаминарующей активности MAO в полушариях мозга крыс, генетически предрасположенных к развитию каталепсии. Однако у крыс «каталептиков» в полушариях было отмечено небольшое, но достоверное понижение деаминарующей серотонин активности MAO.

Отношение активности MAO типа А к MAO типа Б в полушариях мозга было также определено по высоте зоны плато в двухфазной кривой ингибирования деаминарования тирамина хлоргилином (рисунок). Хлоргилин

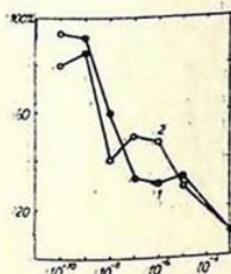


Рис. Влияние предрасположенности крыс к каталепсии на ингибирование деаминарования тирамина хлоргилином в полушариях мозга контрольных (1) и предрасположенных к каталепсии крыс (2). Каждая точка представлена посредством определения активности MAO в гомогенате мозга 14 крыс и выражена как % оставшейся активности MAO после ингибирования ее соответствующей концентрацией хлоргилина. Концентрация тирамина 2,0 мМ. По оси абсцисс — хлоргилин, М; по оси ординат — активность, %

лин является избирательным ингибитором MAO типа А [5]. Поэтому первую фазу кривой, отражающую действие низких концентраций хлоргилина, связывают с его избирательным действием на MAO типа А, действие высоких концентраций — на MAO типа Б [5, 8]. Более высокая оставшаяся активность после ингибирования MAO типа А в мозгу крыс «каталептиков» по сравнению с контрольными животными, как это можно видеть при сопоставлении высоты зон плато (рисунок), указывает на селективное увеличение активности MAO типа Б в полушариях мозга крыс «каталептиков».

Наряду с этим были выявлены изменения в кинетических характеристиках реакций деаминарования бензиламина и дофамина у предрасположенных к каталепсии крыс (табл. 2). Было установлено, что генетически предрасположенные к каталепсии животные характеризуются повышенными значениями как V , так и K_m при деаминаровании бензиламина (табл. 2). Следовательно, изменение активности MAO типа Б в мозгу крыс «каталептиков» связано с увеличением максимальной скорости пре-

Таблица 1

Активность MAO мозга крыс, наследственно предрасположенных к развитию каталепсии (нмоль аммиака/мг белка/мин). Концентрация субстратов равнялась 2,0 мМ)

Группы животных	Ствол мозга			Полушария		
	Серотонин	Бензиламин	Дофамин	Серотонин	Бензиламин	Дофамин
Предрасположенные к каталепсии крысы	2,35±0,19 (14)	2,30±0,08* (6)	3,02±0,08* (6)	1,71±0,10* (8)	1,90±0,07* (8)	2,41±0,04* (8)
Контроль	2,30±0,22 (14)	1,62±0,03 (8)	1,46±0,16 (8)	2,21±0,12 (8)	1,59±0,05 (8)	1,86±0,05 (8)

Примечание. Здесь и в табл. 2 * $p < 0,05$ по сравнению с контролем. В скобках указано число животных.

Таблица 2

Кинетические характеристики V (нмоль NH_3 /мг белка/мин) и K_m (мкМ) реакции дезаминирования бензиламина, дофамина, серотонина MAO мозга крыс, наследственно предрасположенных к каталепсии.

Группы животных	Ствол мозга						Полушария					
	Серотонин		Бензиламин		Дофамин		Серотонин		Бензиламин		Дофамин	
	V	K_m	V	K_m	V	K_m	V	K_m	V	K_m	V	K_m
Предрасположенные к каталепсии крысы	4,80± 0,80	589,0± 145,0	2,86± 0,26	313,0± 48,0	3,49±* 0,39	201,0± 45,0	3,07± 0,58	670,0± 170,0	2,64±* 0,16	448,0± 42,0	3,76±* 0,73	376,0± 160,0
Контроль	3,67± 0,47	408,0± 83,0	1,42± 0,35	101,0± 28,0	2,02± 0,08	417,0± 271,0	3,89± 0,84	619,0± 188,0	1,65± 0,13	137,0± 25,0	1,34± 0,09	685,0± 240,0

ращения МАО-бензиламин комплекса при сниженном средстве МАО типа Б к бензиламину по сравнению с контрольными животными. Увеличение значений V как в стволе, так и в полушариях мозга крыс «каталептиков» было обнаружено и при деаминации дофамина, но при этом существенных изменений K_m отмечено не было. Кинетические характеристики реакции деаминации серотонина в полушариях и в стволе мозга крыс, предрасположенных к развитию катаlepsии, существенно не отличались от K_m и V реакции деаминации серотонина в мозгу контрольных животных.

Обсуждение результатов

У крыс, селекционированных на выраженную предрасположенность к возникновению катаlepsии, обнаружены значительные изменения в активности и кинетических свойствах МАО типа Б в стволе и в полушариях мозга и менее выраженное, но достоверное снижение активности деаминирующей серотонин МАО в полушариях. Эти данные привлекают особое внимание к МАО Б. Нужно отметить, что повышение активности МАО типа Б было обнаружено в мозгу умерших больных шизофренией [10, 11, 21], хотя при этом возникают сомнения [11], не связано ли изменение в активности МАО Б с предшествующим лечением этих больных нейролептиками. Повышение активности МАО типа Б без изменения МАО типа А найдено при старении [22], при болезни Альцгеймера [8], при болезни Хантингтона [9] и при гемитрансекции мозга крыс, ведущей к дегенерации нейронов [8]. В основе этих процессов может лежать сходный механизм—пролиферация глии, поскольку имеющиеся данные свидетельствуют о том, что МАО типа Б локализована преимущественно в нейроглии.

Хотя в механизмах катаlepsии, по-видимому, принимает участие ряд регуляторов, основным в ее механизмах считают ослабление дофаминергических и усиление серотонинергических влияний [14]. Представленные данные свидетельствуют о том, что в ослаблении дофаминергических эффектов существенную роль может играть усиление окислительного деаминации дофамина, связанное с повышением активности МАО типа Б. В то же время в полушариях мозга крыс «каталептиков» были обнаружены противоположной направленности изменения в активности МАО типа А и в деаминации серотонина, являющегося специфическим субстратом для этой формы МАО, которые были менее выражены, чем изменения МАО типа Б, не сопровождались изменением кинетических характеристик реакции и обнаруживались только в полушариях, но не в стволе мозга. Можно предположить, что изменения МАО типа А более локальны. Во всяком случае, повышение активности триптофангидроксилазы было нами [15] обнаружено только в стриатуме, представляющем основной центральный регулятор мышечного тонуса, но не в среднем мозгу, гипоталамусе, гиппокампе.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о существенных изменениях МАО, особенно МАО типа Б, в мозгу крыс, генети-

чески предрасположенных к развитию катаlepsии, и дают основания полагать, что изменения активности MAO играют определенную роль в механизмах развития катаlepsии.

SOME CHARACTERISTICS OF BRAIN MONOAMINE OXIDASE IN RATS WITH GENETIC PREDISPOSITION TO CATALEPSY

N. K. POPOVA, N. N. VOITENKO, V. G. KOLPAKOV, and T. A. ALEKHINA

Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the USSR
Academy of Sciences, Novosibirsk

The activity of benzylamine- and dopamine-deaminating MAO in the brain stem and cerebral hemispheres (including corpus striatum) of rats predisposed to catalepsy was elevated, whereas the activity of serotonin-deaminating type A MAO was decreased in the hemispheres of these animals. Rats with predisposition to catalepsy differed from the controls in that the V_{max} of their benzylamine- and dopamine- deaminating MAO was higher in the brain stem as well as in hemispheres.

ЛИТЕРАТУРА

1. Youdim B. H., Ashkenazi R. — In: *Advances in Biochemical Psychopharmacology* (ed. Ho B. T., Schooler J. C., Usdin E.), p. 35—61. Raven Press, New York, 1982.
2. Cooper J. R., Bloom F. E., Roth R. H. *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*, Univ. Press, New York—London, 1974.
3. Горкин В. Э., Москваитина Т. А., Камышанская Н. С. Вестн. АМН, № 8, с. 55—59, 1984.
4. Canton R. M., Breakefield X. O. *Biochem. Pharmacol.*, v. 32, № 3, p. 441—448, 1983.
5. Johnston J. P. *Biochem. Pharmacol.*, v. 17, p. 1285—1297, 1968.
6. Yang H. Y. T., Neff N. H. *J. Pharmacol. expt. Therap.*, v. 187, № 2, p. 365—371, 1973.
7. Garrick N., Murphy D. *Biochem. Pharmacol.*, v. 31, № 24, p. 4061—4066, 1982.
8. Oreland L., Fowler C., Carlsson A., Magnusson T. *Life Sci.*, v. 26, p. 139—146, 1980.
9. Mann J. J., Stanley M., Gershon S., Rossor M. *Science*, v. 210, p. 1369—1371, 1980.
10. Eckert B., Gottfrtes C., von Knorring L., Oreland L., Wiberg A., Winblad B. — In: *Progress Neuropsychopharmacol.*, v. 4, p. 57—68, Pergamon Press, Gr. Britain, 1980.
11. Fowler C. J., Carlsson A., Winblad B. *J. Neural Transmission*, v. 52, p. 23—32, 1981.
12. Колпаков В. Г. — В кн.: *Очерки по генетике поведения*, с. 186—222. Наука, Новосибирск, 1978.
13. Колпаков В., Барикина Н., Черкасов И. *Behavioural Processes*, v. 6, p. 269—281, 1981.
14. Pycock C. J., Hozton R. W., Carter C. J. — In: *Dopamine. Adv. Biochem. Psychopharmacol.* (ed. Roberts P.), v. 19, Raven Press, N. Y. 1978.
15. Колпаков В. Г., Куликов А. В., Барикина Н., Alekhina T. A., Popova N. K. *Biohemic Amines*, v. 2, № 2, p. 131—136, 1985.

16. Барыхина Н. Н., Чепкасов И. Л., Алехина Т. А., Колпаков В. Г. Генетика, т. 19, № 112, с. 2014—2021, 1983.
17. Gray E. G., Whittaker V. P. J. Anat., v. 96, part 1, p. 79—87. 1962.
18. Горкин В. Э., Гринёва Л. Н., Романова Л. А., Свєрзина И. С. Биохимия, т. 27, № 6, с. 1004—1014. 1962.
19. Корниш-Боулен Э. Основы ферментативной химистики. М., Мир, 1979.
20. Силакова А. И., Труш Г. П., Являкова А. Вopr. мед. химии № 8, с. 538—545, 1962.
21. Schwartz M. A., Aikens A. M., Wyatt R. J. Psychopharmacologia, v. 38, p. 319—344, 1974.
22. Knoll J.—In: Strategy in Drug Research (ed. J. A. Keverling Buismann), p. 107—135, Elsevier, Amsterdam, 1982.
23. Schoep D. D., Azzaro A. J. J. Neurochem. v. 40, № 5, p. 1340—1348, 1983.

Поступила 24. I 1988

Рецепторы (под ред. Р. М. Conn), Academic Press, Лондон, Англия, т. 1—4. (1984—1986 гг.).

The Receptors (ed. P. M. Conn), Academic Press, London, England, v. I—IV.

Книги содержат аналитические обзоры работ, посвященных исследованию рецепторов по широкому спектру дисциплин—фармакологии, эндокринологии, биохимии, клеточной биологии и нейронаукам. Главной целью этих исследований является идентификация сходств и различий между рецепторами и мембранными рецепторами системами. Междисциплинарный подход позволяет ознакомить ученых и исследователей с проблематикой, находящимися вне сферы их непосредственной деятельности. Авторы статей каждого тома суммируют сведения по известным рецепторным системам, пересматривают ранние данные по рецепторам в свете новых открытий и обсуждают методы и достижения, представляющие потенциальный интерес для дальнейшего изучения рецепторов.