

МЕТАБОЛИЗМ СЕРТОНИНА В ГОЛОВНОМ МОЗГУ
КРЫС ПРИ ЛИШЕНИИ ИХ ПАРАДОКСАЛЬНОЙ
ФАЗЫ СНА

МАЛИКОВ У. М., ДЕМИН Н. Н.

Институт физиологии им. И. П. Павлова АН СССР, Ленинград

Согласно Jouvet [1] и ряду других исследователей, серотонин принимает непосредственное участие в процессах сна. В частности, показано [2], что метаболизм серотонина в головном мозгу во время медленноволновой фазы сна усиливался, снижаясь при наступлении парадоксальной фазы сна (ПФС). Торможение же активности катаболизирующей серотонин МАО типа А путем введения специфического ингибитора приводило к значительному уменьшению доли ПФС в цикле сна [3]. Несмотря на многочисленные исследования, конкретная функция серотонина в динамике сна остается пока неясной. В связи с этим важно и детальное изучение метаболизма серотонина в головном мозгу при сне и его нарушениях. На путях дальнейшего изучения метаболизма серотонина в этих условиях казалось желательным исследовать влияние избирательного лишения ПФС на содержание и катаболизм серотонина именно в серотонинергических структурах головного мозга.

Опыты были проведены на крысах-самцах линии *Wistar*, массой 140—180 г. Избирательное лишение ПФС осуществляли по методу Jouvet и соавт. [4], помещая животных на деревянные площадки (размером 45×45 мм) над водой. В этих условиях у крыс может развиваться медленноволновая фаза сна, но они лишены возможности свободно лежать, что необходимо для развития ПФС. При этом они испытывают определенную гипокинезию, однако выраженных явлений стресса при 1—2-суточном опыте у них не проявляется, что позволяет полагать о возможности использования данного метода для моделирования состояния именно лишения ПФС [5]. Вообще же факт ненормально длительного выпадения ПФС в естественных циклах бодрствование—сон сам по себе является, несомненно, стрессорным, чем бы он ни был вызван.

Через 24 ч лишения ПФС крыс сразу декапитировали. Из головного мозга выделяли средний и промежуточный мозг. В 10%-ных гомоге-

татах определяли содержание серотонина и продукта его катаболизма—5-оксиндолюксусной кислоты (5-ОИУК) спектрофлуориметрическим методом [6]. Для точного совпадения спектров возбуждения и флуоресценции серотонина, экстрагированного из ткани, со спектрами серотонина—стандарта, гомогенизацию ткани проводили в 0,1 н. HCl, насыщенной NaCl, а не в бутаноле [7]. Флуоресценцию проб измеряли на спектрофотометре фирмы «Hitachi» (Япония) при следующих длинах волн: возбуждения—360 нм и флуоресценции—480 нм. Содержание серотонина и 5-ОИУК рассчитывали в микрограммах на 1 г влажной ткани. В качестве стандарта использовали растворы серотонина («Reanal», Венгрия) и 5-ОИУК («Sigma», США). Для определения активности MAO выделяли целиком стволовую часть головного мозга. Ткань, полученную от 2 животных, объединяли и гомогенизировали в гомогенизаторе тефлон-стекло в следующей среде: 0,32 М сахарозе, 10 мМ трис-HCl и 1 мМ ЭДТА, pH 7,4. Методом градиентного центрифугирования получали очищенные митохондриальную и синаптосомную фракции. Осадки этих фракций суспендировали в 0,01 М фосфатном буфере (pH 7,4) и использовали для определения активности MAO по методу Горкина и соавт. [8]. Инкубацию каждой субцеллюлярной фракции проводили в присутствии 1 мМ серо-

Таблица

Содержание серотонина и 5-оксиндолюксусной кислоты (в мкг/г сырой массы) в среднем и промежуточном мозгу крыс при лишении парадоксальной фазы сна (ПФС)

Состояние животного	Средний мозг	Промежуточный мозг
	С е р о т о н и н	
Бодрствование	1,170±0,047 (12)	1,330±0,044 (15)
Лишение ПФС	1,290±0,045 (12)	1,470±0,052 (16)
	5-оксиндолюксусная кислота	
Бодрствование	0,380±0,026 (11)	0,730±0,023 (14)
Лишение ПФС	0,550±0,023 (12)	0,990±0,032 (11)
	p<0,001	p<0,001

Примечание. В скобках указано число животных.

тонина в качестве субстрата в течение 30 мин при 37,5° в атмосфере O₂. Активность MAO выражали в нмоль NH₃/мин/мг белка. Количество аммиака, выделявшегося при дезаминировании серотонина, определяли методом нesslerизации после изотермической отгонки [9]. Содержание белка в пробах определяли модифицированным методом Lowry и соавт. [10]. Полученные данные статистически обрабатывали по Стьюденту-Фишеру. Как видно из приведенных в таблице данных, содержание серотонина в ткани среднего мозга бодрствовавших животных было на 14%

($p < 0,05$) ниже, чем в промежуточном и составляло соответственно 1,17 и 1,33 мкг/г. Содержание 5-ОИУК в среднем мозгу по сравнению с промежуточным оказалось также значительно меньше, что соответствует литературным данным [6]. Такие различия, по-видимому, связаны с тем, что именно в промежуточном мозгу оканчиваются синаптические терминалы многих серотонинергических нейронов и проходят основные нервные пути этих нейронов. Лишение же крыс ПФС в течение 24 ч не вызывало достоверных изменений количества серотонина в исследованных отделах мозга. Надо заметить, что, по сообщению Borbely [11], полное лишение сна—как медленноволновой фазы, так и ПФС—в течение 24 ч не влияло на содержание серотонина в переднем мозгу крыс. В то же время лишение ПФС в наших условиях вызывало заметное повышение содержания 5-ОИУК как в среднем мозгу (на 45%), так и в промежуточном (на 35%).

Активность MAO в митохондриальной и синапсомной фракциях ствола головного мозга бодрствовавших крыс, по нашим данным, составляла, соответственно, $7,45 \pm 0,48$ и $7,24 \pm 0,69$ нмоль $\text{NH}_3/\text{мин}/\text{мг}$ белка; это совпадает с величинами, установленными Горошинской и соавт. [12]. После 24-часового лишения крыс ПФС оказалось, что активность MAO в стволовых структурах головного мозга не изменялась. Так, ее активность (в нмоль $\text{NH}_3/\text{мин}/\text{мг}$ белка) в митохондриальной фракции составляла $8,36 \pm 0,46$, а в синапсомной— $7,81 \pm 1,20$ (разница с контрольными данными недостоверна).

Хотя есть некоторые данные [13], что предшественник серотонина 5-окситриптофан под влиянием трансминазы ароматических аминокислот, избежав превращения в серотонин, может подвергаться переаминированию с последующим декарбок্সилированием и окислением, также образуя 5-ОИУК, этот путь крайне ограничен [14]. Таким образом, основным источником 5-ОИУК в тканях остается только серотонин. Поэтому можно полагать, что результаты нашей работы свидетельствуют о том, что несмотря на данные о стабильности активности MAO в суммарных гомогенатах ствола мозга при лишении ПФС, оно сопровождается значительным повышением интенсивности метаболизма серотонина с поддержанием содержания последнего на уровне контроля.

SEROTONIN METABOLISM IN RAT BRAIN UNDER REM-SLEEP DEPRIVATION

U. M. MALIKOV and N. N. DOEMIN

Pavlov Institute of Physiology USSR Academy of Sciences, Leningrad

We demonstrated that in rats REM-sleep deprivation has no effect on serotonin level in mesencephalon and diencephalon or on the monoaminoxidase activity in the mitochondrial and synaptosomal fractions of the brain stem homogenate. However, REM-sleep deprivation is accompanied by the accumulation of 5-hydroxyindoleacetic acid, a product of

serotonin oxidative catabolism, in mesencephalon and diencephalon. These data may point out that REM-sleep deprivation leads to a considerable increase in the rate of serotonin metabolism in brain stem, whereas serotonin level remains unchanged.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jouviet M. *Ergebn. Physiol.*, B. 64, S. 166—307, 1972.
2. Cespuglio R., Jouviet M. *Neurosci. Lett.*, v. 24, suppl. 7, p. 327, 1981.
3. Mendelson W. B., Cohen R. M., Campbell I. C., Murphy D. L., Gillin J. C., Wgatt R. J. *Pharmacol. Biochem. and Behav.*, v. 16, p. 429—431, 1982.
4. Jouviet D., Vlmont P., Delorme F., Jouviet M. *Compt. r. Soc. biol.*, t. 158, p. 756—759, 1964.
5. Демин Н. Н.—В кн.: Вопросы биохимии нервной и мышечной систем, вып. 3 (под ред. В. Н. Чиньвадзе), с. 155—160, Тбилиси, Мецниереба, 1979.
6. Curson G., Green A. R. *Brit. J. Pharmacol.*, v. 39, p. 653—655, 1970.
7. Узбеков М. Г. *Онтогенез*, т. 12, с. 58—65, 1981.
8. Горкин В. Э., Вережкина И. В., Гриднева А. И., Жердева Л. В., Кляшторин Л. Б., Кривченкова Р. С., Комиссарова Н. В., Лсонтъева Г. А., Романова Л. А., Северина И. С., Фейлина С. М.—В кн.: Современные методы в биохимии, с. 155—177, М., Медицина, 1968.
9. Силаскова А. И., Труш Г. П., Являкова А. *Вопр. мед. химии*, т. 8, с. 538—544, 1962.
10. Miller G. Z. *Anal. Chem.*, v. 31, p. 964, 1959.
11. Borbely A. A. *Behav. Brain Res.*, v. 1, p. 205—210, 1980.
12. Горошинская Н. А., Грабовская Л. Л., Броницкая Э. Г., Кричевская А. А. *Физиол. журн. СССР*, т. 67, с. 1611—1616, 1981.
13. Fonnum F., Haavaldsen R., Tangen O. J. *Neurochem.*, v. 11, p. 109—118, 1964.
14. Young S. N., Sourkes T. L.—In: *Adv. Neurochem.*, v. 2 (eds. B. W. Agranoff, M. H. Aprison), p. 133—191. New York—London, Plenum Press, 1977.

Поступила 20. IV 1988