

1) has been isolated in a homogenous state from bovine hypothalamus. The affinity of this peptide to benzodiazepine receptors and its concentration in hypophysis are high. An attempt to identify the human gene of DBI peptide is also made.

ЛИТЕРАТУРА

1. Speth R. S., Jonson R. W., Regan J., Reisine T., Kobayashi D. M., Bresoltn N., Roeske W. R., Yamamura H. I. *Federat. Proc.*, v. 39, p. 3332—3038, 1980
2. Costa E.—in: *Profile of a neuroscience research program at the National institute of Mental Health (1968 thru 1985)*, p. 253, Tipolitografia Campisi Uicenza, Italia, 1985.
3. Corda M. G., Ferrary M., Guidotti A., Konkel D., Costa E. *Neurosci. Lett.*, v. 47, p. 319—325, 1984.
4. Ferrero P., Santi M. R., Conti-Tronconi B., Costa E., Guidotti A. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, v. 83, p. 827—831, 1985.
5. Барам Г. И., Грачев М. А., Назимов Н. В., Плетнев А. Р., Прессман Е. К., Рубин О. Г., Сальчиков Я. А., Семашко Н. В., Чумаков М. П., Шемякин В. В., Ямщиков В. Ф. *Биооргани. химия*, т. 11, № 12, с. 1677—1680, 1985.
6. Baram G. I., Grachev M. A., Komarova W. I., Perelroyzen M. P., Bolvanov Yu. A., Kuzmin S. U., Kargaltsev U. U., Kuper E. A. *J. Chromatogr.*, v. 264, p. 69—90, 1983.
7. Mohler H., Okada T. *Science*, v. 198, p. 849—853, 1977.

Поступила 9. IX 1986

УДК 612.822.1:577.175.823:615.212.7:547.95

НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ И НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПЕРЕСТРОЙКИ В СТРУКТУРАХ МОЗГА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НЕКОТОРЫХ НЕЙРОПЕПТИДОВ

ГЕРШТЕИН А. М.

Институт мозга ВНИИ психического здоровья АМН СССР, Москва

Комплексное нейрофизиологическое и цитохимическое исследование показало, что при однократном системном введении тетрапептида (Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH₂) или таффина (Thr-Lys-Pro-Arg) в период выраженного их действия на двигательную активность животных наблюдаются существенные изменения систем синтеза и деградации моноаминов, АХЭ, а также метаболизма белков и некоторых протеаз в структурах двигательной системы головного мозга исследованных млекопитающих. Эти изменения проявлялись как на корковом, так и на подкорковом уровнях, затрагивая в большей степени подкорковые структуры (хвостатое ядро).

Действие биоактивных нейропептидов на ЦНС осуществляется либо за счет их взаимодействия со специфическими рецепторами, либо за счет влияния на медиаторные системы головного мозга. При этом они проявляют по отношению к последним модулирующие эффекты [1]. В связи с этим в последние десятилетия заметно повышенный интерес к изучению

механизмов действия биоактивных эндогенных пептидов, их роли в организации и регуляции физиологических процессов, в частности в ЦНС [2]. Вместе с тем, пептиды представляют собой хорошую биологическую модель для исследования морфохимической организации структур мозга, входящих в ту или иную функциональную систему мозга (двигательная, зрительная, слуховая и т. д.), так как, несмотря на полифункциональность пептидов, для многих из них известна определенная направленность по отношению к конкретным функциям мозга.

В лаборатории цитохимии Института мозга на протяжении ряда лет совместно с лабораторией морфофизиологии условного рефлекса проводятся цитобioхимические исследования по изучению влияния нейропептидов на превращения нейромедиаторов и белков в корково-подкорковых структурах мозга некоторых млекопитающих. В настоящем сообщении делается попытка обобщить полученные в лаборатории материалы для выявления корреляции между функциональным состоянием животного и морфохимическими изменениями в отдельных структурах мозга, возникающими при воздействии нейропептидов на организм.

Проведено сравнительное изучение действия 2-х тетрапептидов—тафцина и тетрапептидамида (ТПА)—для каждого из которых преобладающим является воздействие на двигательную активность. Синтетический аналог опиоидных пептидов ТПА по физиологическим критериям [4] характеризуется двухфазностью своего действия. В течение 30 мин после введения ТПА оказывает анальгетический эффект с развитием в последующие периоды (от 40 мин до 3 суток) двигательных нарушений, проявляющихся в снижении у животных двигательной активности. Тетрапептид тафцин также обладает двухфазным действием [5], однако в первые 15—30 мин после системного введения для него характерно возрастание двигательной активности, сопровождающееся целым рядом изменений со стороны поведения животного (агрессивность, отсутствие чувства страха и т. д.); это возбуждающее действие в последующие 4 ч сменяется на седативный эффект.

Была предпринята попытка проанализировать по использовавшимся нами показателям (метаболизм нейромедиаторов и белков) состояние структур сенсомоторной коры и хвостатого ядра в период изменения двигательной активности у животных, ее снижение при воздействии ТПА и ее активация при действии тафцина.

Материалы и методы

Одной группе кроликов породы шиншилла и крысы линии Wistar вводили подкожно ТПА (синтезированный в лаборатории синтеза белка ВКНЦ АМН СССР) из расчета 500 мкг/кг массы животного, другой группе животных—тафцин («Serva», ФРГ) из расчета 300 мкг/кг; пептиды растворяли в 1 мл физиологического раствора. После инъекции ТПА животных декапитуировали через 3 суток, так как по физиологическим данным в этот период отмечают расстройство со стороны двигательных функций, а анальгетический эффект уже отсутствует. После инъекции тафцина животных декапитуировали через 15—30 мин—период наиболее ярко выраженного общего, в том числе и двигательного, возбуждения.

Были исследованы сенсомоторная область коры больших полушарий и хвостатое ядро мозга кроликов и крыс. В субфракциях синаптических мембран (В), синапсом (С и D) и митохондрий (Е), выделенных в градиенте плотности сахарозы (0,8—1,4 М), спектрофотометрически определяли активность АХЭ [6] и МАО типа А (субстрат серотонин) [7] и типа В (субстрат-п-нитрофениламин) [8]. Результаты определения выражали в процентах величины У. А. ферментов по отношению к контрольным данным, принятым за 100%. Количественными цитохимическими методами в нейронах определяли активность аминсалицилааминазы (АМПА) [9], АХЭ [10] и МАО [11] на люминесцентном микроскопе ЛЮМАМ в условных единицах оптической плотности при длине волны для АМПА—550, АХЭ—486, МАО—590 нм. Интерферометрически по сухой массе вещества нейронов определяли содержание и концентрацию структурированных белков с одновременным определением размеров нейронов [12]. Экспериментальные данные обработаны статистически по критерию Стьюдента.

Результаты исследования

Через 15—30 мин после введения тафцина у животных отмечали общее возбуждение, выражавшееся целым рядом физиологических проявлений (побежки, стойки, поведение в «открытом поле» и т. д.). При этом каких-либо изменений в уровне активности МАО и АХЭ при их послойном определении [13] как в коре, так и в хвостатом ядре не наблюдали (рис. 1). Вместе с тем дифференцированное выявление форм МАО А и В при определении их в субфракциях синапсом (С и D) и митохондриях (Е) [14] показало, что в сенсомоторной коре и хвостатом ядре активность МАО типа А была достоверно снижена на 25%, тогда как для МАО типа В характерным оказалось возрастание ее активности в коре и подкорке до 140—200%. Изменения активности АХЭ в этот период не было.

После введения ТПА [4] уже через 40 мин у животных выявлялись изменения в двигательной сфере: снижение двигательной активности, нарушение координации движений задних конечностей и т. д. Одновременно во всех исследованных корковых, подкорковых и стволовых структурах

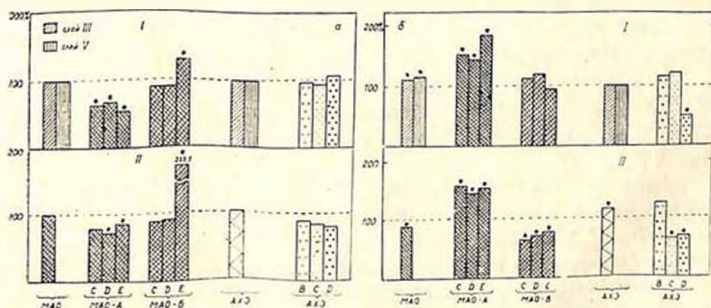


Рис. 1. Изменение активности МАО и АХЭ в субклеточных фракциях сенсомоторной коры (I) и хвостатого ядра (II) под действием тафцина в течение 15—30 мин (а) и ТПА в течение 3-х суток (б); III—в % к контролю

мозга имело место снижение амплитуды ЭЭГ. Процентное же соотношение частот, составляющих ЭЭГ, в каждой из структур не отличалось от такового до введения препарата. На второй день после введения препарата нарушения в двигательной сфере были менее выраженными, амплитуда ЭЭГ, особенно в неокортикальных образованиях, приближалась к исходной. На третий день симптомы двигательных расстройств опять становились более выраженными по сравнению с предшествующим днем. Во всех структурах мозга наблюдалось и большее снижение амплитуды ЭЭГ.

Таким образом, на основании физиологических критериев можно говорить, что изменения, вызываемые ТПА, носили ундулирующий характер.

В то же время под влиянием ТПА цитохимически было обнаружено возрастание уровня активности МАО в слое III сенсомоторной коры (на 11%) и ее достоверное снижение (на 11%) в структурах хвостатого ядра. Во всех субфракциях сенсомоторной коры и хвостатого ядра достоверно увеличивалась активность МАО типа А, в среднем на 60%, тогда как активность МАО типа Б была достоверно снижена в хвостатом ядре (на 28—56%). Уровень активности АХЭ при послойном определении достоверно возрастал только в хвостатом ядре (на 15%), был снижен в субфракции D сенсомоторной коры (на 50%) и в субфракциях С и D (на 35%) хвостатого ядра [15].

При интерферометрическом определении сухой массы вещества нейронов, которая на фиксированном материале отражает содержание в них структурированных белков [12], через 15—30 мин после введения тафцина было обнаружено возрастание содержания белка в цитоплазме нейронов слоя III сенсомоторной коры (на 40%) без изменения их размеров (рис. 2). В слое V также достоверно (на 35%) возрастало содержание белка в цитоплазме нейронов с одновременным увеличением и их размеров (на 31%). Достоверное возрастание содержания белка в цитоплазме (на 40%) имело место и в исследованных нейронах хвостатого ядра [16]. При этом было отмечено и достоверное (на 30%) возрастание количества SH-групп низкомолекулярных типов в тяжелых синапсоммах сенсомоторной коры [14].

Активность АМП достоверно возрастала в слоях III и V коры (на 26 и 30% соответственно) и была снижена в структурах хвостатого ядра (на 11%) [13].

Через 3 суток после введения ТПА в цитоплазме нейронов слоя V сенсомоторной коры наблюдали достоверное уменьшение содержания белка (на 15%); в нейронах же слоя III оно оставалось на уровне контроля. Одновременно размеры нейронов достоверно уменьшались (на 20 и 17% соответственно). В хвостатом ядре содержание белка в цитоплазме нейронов достоверно возрастало (на 30%). При этом в нейронах слоев III и V, а также в нейронах хвостатого ядра возрастало и включение ³H-лейцина в белки соответственно на 12, 28 и 14% [17]. Активность АМП во всех исследованных структурах возрастала; в слое III—на 57%, в слое V—на 29% и в хвостатом ядре—на 21% [18].

Сопоставление ответной реакции корково-подкорковых структур на воздействие исследованных пептидов показало, что как при введении ТПА, так и тафцина, наибольшие изменения, если судить по числу показателей по сравнению с корой, происходят в структурах хвостатого ядра, причем в большей мере это проявляется при введении ТПА. Для различных видов животных, в том числе и крыс, показано, что хвостатое ядро вовлекается в организацию двигательных программ. Полученные

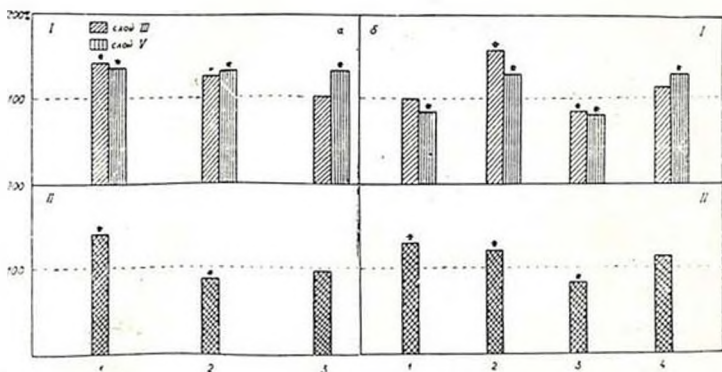


Рис. 2. Содержание белка и активность аминопептидазы в структурах мозга через 15—30 мин после введения тафцина (а) и через 3-е суток после введения ТПА (б). I—сенсомоторная кора, II—хвостатое ядро

материалы согласуются с известными из литературы физиологическими данными, указывающими на участие хвостатого ядра в процессах памяти, восприятия, внимания, эмоций и мотиваций [19, 20].

Следует также отметить, что изменения в метаболизме белков были выражены в значительно большей степени, чем со стороны медиаторных систем. Это находит свое объяснение в полученных нами ранее данных при работе с другими экспериментальными моделями, особенно при зрительной депривации [21], и известных из литературы данных о том, что адекватным показателем изменения функционального состояния ЦНС являются сдвиги в метаболизме белков [22].

NEUROCHEMICAL AND NEUROPHYSIOLOGICAL SHIFTS IN BRAIN STRUCTURES UNDER THE EFFECT OF SOME NEUROPEPTIDES

GERSTEIN L. M.

Institute of Brain Research, All-Union Research Center of Mental Health, USSR
Acad. Med. Sci., Moscow

The period of effect on motor activity that follows systemic administration of Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH₂ and tuftsin (Thr-Lys-Pro-Arg) is accompanied by significant changes in the systems of biosynthesis

and degradation of monoamines, acetylcholinesterase and proteinase activity and metabolism of proteins in motor structures of mammalian brain. These changes have been detected in cortical and subcortical regions, affecting most of all subcortical structures, namely n. caudatus.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Вальдман А. В. *Вопр. мед. химии*, т. 30, № 3, с. 56—63, 1984.
2. Ашмарин И. П. *Вопр. мед. химии*, т. 30, № 3, с. 2—7, 1984.
3. Келшова Л. Ф., Толпыго С. М. *Журн. высш. нерв. деят-сти*, т. 34, № 1, с. 169—171, 1984.
4. Попова Н. С., Доведова Е. А. *Журн. высш. нерв. деят-сти*, т. 34, № 3, с. 926—931, 1984.
5. Вальдман А. В., Козловская М. М., Ашмарин И. П., Минаева М. Ф., Анохин К. В. *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, т. 92, № 7, с. 31—33, 1981.
6. Hestrin S. J. *Biol. Chem.*, v. 180, p. 249—261, 1949.
7. Popov V., Roseler C., Thiemann H., Matthies H. *Acta biol. et med. ger.*, v. 26, p. 239—245, 1971.
8. Горкин В. Э., Верёвкина И. В., Гринская Л. И., Жердса Л. В., Кляшторин Л. Б., Кривиченкова Р. С., Комиссарова Н. В., Леонтьева Г. А., Романова Л. А., Сесерина И. С., Фейгина С. М.—В кн.: *Современные методы в биохимии*, с. 155—161, М., Медицина, 1967.
9. Герштейн Л. М. *Цитология*, т. 7, № 6, с. 769—773, 1965.
10. Karnovsky M. J., Roots L. J. *Histochem. Cytochem.*, v. 12, p. 219—221, 1964.
11. Glenner G. G., Burthor H. W. J. *Histochem. Cytochem.*, v. 5, p. 591—600, 1957.
12. Бродский В. Я. *Трофика клетки*, М., Наука, 1966.
13. Сергутина А. В. *Тезисы докл. IV Всесоюз. конф. «Физиология и биохимия медиаторных процессов»*, с. 295, М., 1985.
14. Доведова Е. А., Качалова Л. М., Орлова Е. Н. *Журн. невропатол. и психиатрии*, т. 86, № 7, с. 1025—1028, 1986.
15. Герштейн Л. М., Доведова Е. А., Узбеков М. Г., Голикова Т. А., Сергутина А. В., Ашмарин И. П. *Нейрохимия*, т. 3, № 3, с. 236—243, 1984.
16. Герштейн Л. М., Чеботарева Т. А. *Нейрохимия*, т. 5, № 2, с. 180—184, 1986.
17. Худосерков Р. М. *Нейрохимия*, т. 5, № 1, с. 53—56, 1986.
18. Герштейн Л. М., Сергутина А. В., Худосерков Р. М. *Цитология*, т. 27, № 9, с. 1059—1063, 1985.
19. Мухин Е. И. *Журн. высш. нерв. деят-сти*, т. 33, № 1, с. 46—53, 1983.
20. Schneider J. S. *Biological Psychiatry*, v. 19, № 12, p. 1693—1710, 1984.
21. Пизарова Э. Д., Буснюк М. М., Герштейн Л. М., Доведова Е. А., Узбеков М. Г.—В кн.: *Развивающийся мозг и среда*, с. 142—192, М., 1980.
22. Hyden H. *Neurochemistry*, Springfield, Ill № p. 331—375, 1962.

Поступила 10. IX 1986