



УДК 612.822.1

О ПРЕСИНАПТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ СЕРТОНИНА В МЕЗОДИЭНЦЕФАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ МОЗГА КРЫС

АРМЕНЯН А. Р., АРАКЕЛЯН Л. Н., ГАЛОЯН А. А.

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

Изучено влияние ГАМК, норадреналина и морфина на K^+ -вызванное высвобождение 3H -серотонина из синапсом мезодиэнцефальной области мозга крыс. ГАМК (10^{-3} М) и норадреналин (10^{-7} — 10^{-5} М) не изменяют K^+ -вызванное Ca^{2+} -зависимое высвобождение 3H -серотонина из синапсом. Морфин (10^{-4} — 10^{-3} М) подавляет вызванное высвобождение 3H -серотонина из синапсом, и этот эффект блокируется в присутствии налоксона (10^{-4} М). Предполагается, что в мезодиэнцефальной области мозга отсутствует ГАМК- и норадренергическая регуляция высвобождения серотонина на уровне нервных окончаний, тогда как опиатные нейроны участвуют в регуляции высвобождения серотонина, действуя непосредственно на серотонинергические нервные окончания.

Проблема взаимодействия нейромедиаторов в последние годы привлекает должное внимание исследователей, так как баланс между разными нейромедиаторными системами играет важную роль в регуляции функции мозга.

Мезодиэнцефальная область мозга богата ГАМК-ергическими, норадренергическими и серотонинергическими нервными окончаниями. Возможно, что в этой области существует взаимодействие между упомянутыми системами на уровне нервных окончаний. Результаты наших исследований последних лет свидетельствуют о том, что в этой области мозга ГАМК регулирует высвобождение норадреналина [1—3].

Установлено, что ГАМК тормозит вызванное высвобождение как эндогенного, так и экзогенного серотонина из срезов мезодиэнцефальной области [4, 5]. Однако эти данные еще не свидетельствуют о влиянии ГАМК на уровень серотонинергических нервных окончаний. С целью выяснения этого вопроса мы изучали в данной работе влияние ГАМК на вызванное высвобождение 3H -серотонина из синапсом мезодиэнцефальной области.

Несомненный интерес представляет также изучение участия норадренергической системы и опиатных рецепторов, обнаруженных на

катехоламинергических [6, 7] и ГАМК-ергических [8] нервных окончаний, в регуляции высвобождения серотонина в мезодienceфальной области мозга, что также стало предметом нашего исследования.

Материалы и методы

Синапсомы выделяли по методу Hajos [9] из мезодienceфальной области мозга крыс и инкубировали 10 мин в присутствии $5 \cdot 10^{-8}$ М 3 H-серотонина. Затем 1 мл инкубированной суспензии переносили в суперфузионные камеры на миллиметровые мембранные фильтры (диаметр—0,6 мкм, тип ДА). Высвобождение 3 H-серотонина изучали суперфузионным методом Raiteri и соавт. [10]. Суперфузию проводили со скоростью 1 мл/мин. Радиоактивность суперфузионной среды и синапсомом измеряли после добавления сцинтилляционной среды Брея на жидкостном сцинтилляционном счетчике «Intertechnique SL-4221» (Франция). Степень высвобождения (f) рассчитывали по отношению радиоактивности суперфузионной среды к оставшейся радиоактивности синапсомом (распады в мин).

Использовали Кребс-бикарбонатный буфер pH 7,2—7,4 со следующим составом (в мМ): NaCl—113; KCl—4,75; KH_2PO_4 —1,2; MgSO_4 —1,2; NaHCO_3 —25; CaCl_2 —2,5; глюкоза—11,5. В буфер добавляли 0,12 мг/мл паргиллина и 0,2 мг/мл аскорбиновой кислоты. В K^+ -обогатщенной среде (40 мМ) изотоничность раствора достигалась изомолярным замещением NaCl на KCl. В Ca^{2+} -свободную среду CaCl_2 не добавляли. Использовали 3 H-серотонин с величиной У. А. 15,9 Ки/мМ («Amersham», Англия), ГАМК («Serva», ФРГ), норадреналин и паргиллин («Sigma», США), морфин («Reanal», Венгрия).

Результаты и обсуждение

Влияние ГАМК на K^+ -вызванное Ca^{2+} -зависимое высвобождение 3 H-серотонина из синапсом мезодienceфальной области мозга. После предварительной инкубации синапсомом в присутствии 3 H-серотонина на 12-ой мин суперфузии с исходным буфером к ним добавляли K^+ -обогатщенную среду, что стимулировало высвобождение 3 H-серотонина на 130%. Когда к синапсомом совместно с K^+ добавляли ГАМК (10^{-3} М), вызванное высвобождение 3 H-серотонина не изменялось (рис. 1, а).

Известно, что вызванное деполяризацией высвобождение медлителей зависит от Ca^{2+} , что хорошо согласуется с результатами наших исследований, показавших подавление K^+ -вызванного высвобождения 3 H-серотонина в Ca^{2+} -свободной среде (рис. 1, б). Нами показано, что в бескальциевой среде подавленное высвобождение 3 H-норадреналина (вызванное K^+ и протонвератрином) частично восстанавливалось при добавлении ГАМК [2, 3]. Этот факт можно объяснить выбросом Ca^{2+} из его внутриклеточных запасов под действием ГАМК. Однако, как видно из рис. 1, б, ингибированное высвобождение 3 H-серотонина в Ca^{2+} -свободной среде в присутствии ГАМК не подвергается изменениям.

Таким образом, ГАМК не действует на вызванное высвобождение серотонина из нервных окончаний в мезодienceфальной области. Сопоставляя эти данные с результатами наших ранних исследований, показавшими подавление вызванного высвобождения 3 H-серотонина

из гипоталамических и мезодienceфальных срезов [4, 5] под действием ГАМК можно предположить, что в этой области ГАМК-ергическая регуляция высвобождения серотонина не осуществляется на уровне первичных окончаний. Вероятно, что полученный нами эффект ГАМК на высвобождение серотонина в срезах является результатом опосредованного действия через короткие интернейроны, а также влияния ГАМК на высвобождение серотонина из глии.

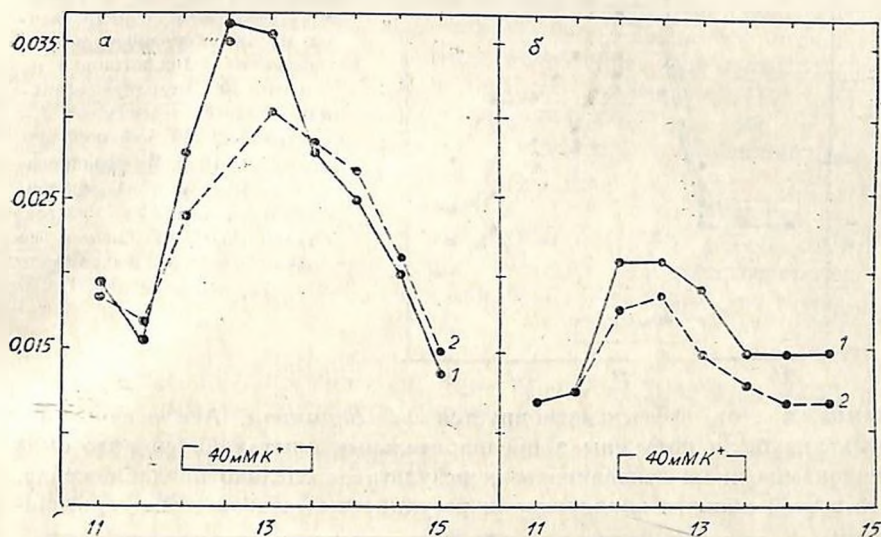


Рис. 1. Влияние ГАМК на K^+ -вызванное высвобождение 3H -серотонина из синапсом мезодienceфальной области мозга крыс: а—в присутствии и б—в отсутствие Ca^{2+} . По оси абсцисс—время суперфузии в мин; по оси ординат—степень высвобождения 3H -серотонина (f); 1—контроль, 2— 10^{-3} М ГАМК. Средние данные 7—10 опытов. Стандартные отклонения не более 10%.

Влияние норадреналина на K^+ -вызванное высвобождение 3H -серотонина из синапсом мезодienceфальной области мозга. При изучении влияния норадреналина на K^+ -вызванное высвобождение 3H -серотонина из синапсом в суперфузионную среду вместе с K^+ добавляли норадреналин в концентрациях 10^{-7} — 10^{-5} М. Результаты исследований показали, что используемые концентрации норадреналина не изменяли K^+ -вызванное высвобождение 3H -серотонина (рис. 2). Как видно из данных, представленных на рис. 2, в присутствии норадреналина в концентрации 10^{-5} М наблюдается тенденция подавления вызванного высвобождения 3H -серотонина, однако этот эффект статистически не достоверен. В присутствии норадреналина в концентрации 10^{-7} М степень высвобождения 3H -серотонина не изменяется, но время воздействия K^+ увеличивается (рис. 2).

Известно, что серотонинергические первичные окончания мезодienceфальной области возникают из ядер шва, на которых заканчивают-

ся первые окончания порадренергических нейронов из голубого пятна. Показано, что этими порадренергическими окончаниями модифицируется активность серотонинергических нейронов [11, 12]. Frankhuysen, Mulder [13] показали, что порадреналин ($3 \cdot 10^{-8}$ — $3 \cdot 10^{-6}$ М) подавляет K^{+} -вызванное высвобождение 3H -серотонина из срезов гиппо-

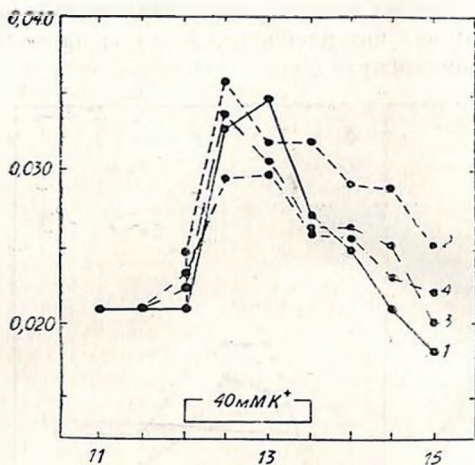


Рис. 2. Влияние порадреналина на K^{+} -вызванное высвобождение 3H -серотонина из синапсом мезодиэнцефальной области мозга крыс. 1—контроль; 2— 10^{-7} М порадреналин; 3— 10^{-6} М порадреналин; 4— 10^{-5} М порадреналин. Средние данные 5—7 опытов. Стандартные отклонения не более 10%. Обозначения те же, что и на рис. 1.

кампа, и этот эффект ингибируется фентоламином. Аналогичные результаты были получены в предварительных опытах на синапсом гиппокампа, и на основании этих результатов сделано предположение, что в этой области порадреналин регулирует высвобождение серотони-

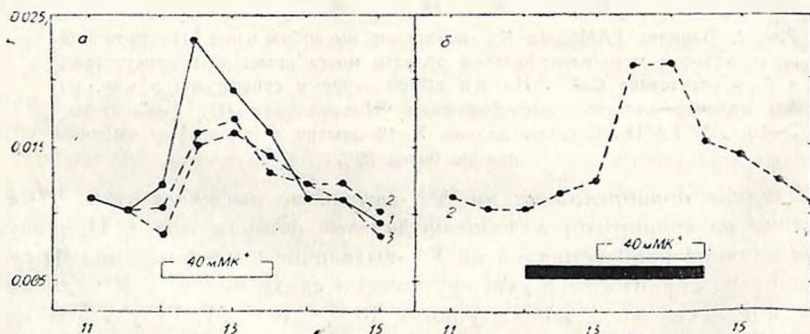


Рис. 3. Влияние морфина на K^{+} -вызванное высвобождение 3H -серотонина из синапсом мезодиэнцефальной области мозга крыс: а—в отсутствие и б—в присутствии палоксона (10^{-4} М) (заштрихованная область); 1—контроль; 2— 10^{-4} М морфин; 3— 10^{-3} М морфин. Средние данные 8—11 опытов. Стандартные отклонения не более 10%. Обозначения те же, что на рис. 1.

на через α -рецепторы, локализованные на серотонинергических первых окончаниях. Исходя из результатов настоящих исследований, можно предположить, что в мезодиэнцефальной области отсутствует ре-

гуляция высвобождения серотонина норадреналином на уровне нервных окончаний.

Влияние морфина на K^+ -вызванное высвобождение 3H -серотонина из синапсом мезодиэнцефальной области мозга. После инкубации синапсом с 3H -серотонином на 12-ой мин суперфузии в среду вместе с K^+ добавляли морфин в концентрациях 10^{-4} и 10^{-3} М. Используемые нами концентрации морфина значительно подавляли K^+ -вызванное высвобождение 3H -серотонина из синапсом (рис. 3, а). В следующей серии опытов изучали влияние морфина на K^+ -вызванное высвобождение 3H -серотонина после предварительной суперфузии синапсом с антагонистом опиатных рецепторов—налоксоном (10^{-4} М). Выяснилось, что налоксон не влияет на спонтанное высвобождение 3H -серотонина из синапсом, но в его присутствии тормозящий эффект морфина подвергается реверсии (рис. 3, б).

На основании полученных результатов можно предположить, что в мезодиэнцефальной области мозга опиатные нейроны участвуют в регуляции высвобождения серотонина, действуя непосредственно на серотонинергические нервные окончания через специфические опиатные рецепторы.

PRESYNAPTIC REGULATION OF SEROTONIN RELEASE IN RAT BRAIN MESODIENCEPHALIC REGION

ARMENIAN A. R., ARAKELIAN L. N., GALOYAN A. A.

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

Effects of GABA, noradrenaline and morphine on the K^+ -evoked release of 3H -serotonin from synaptosomes of rat brain mesodiencephalic region was studied. GABA (10^{-3} M) and noradrenaline (10^{-7} — 10^{-5} M) exerted no effect on the evoked release of 3H -serotonin, whereas this process was inhibited by morphine (10^{-4} — 10^{-3} M). The effect of morphine was antagonized by naloxone (10^{-4} M). These results make it possible to suggest the absence of GABA- and noradrenergic regulation of serotonin release at the nerve endings level and involvement of opiate neurons in this process in rat brain mesodiencephalic region.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Армения А. Р., Чифликян М. Д., Бунятыан Г. Х. *Вопр. биохимии мозга*, т. 14, с. 135—142, Изд-во АН АрмССР, 1980.
2. Чифликян М. Д., Армения А. Р., Бунятыан Г. Х. *Физиол. журн. СССР*, т. 67, с. 1001—1006, 1981.
3. Армения А. Р., Чифликян М. Д. *Физиол. журн. СССР*, т. 67, с. 1265—1268, 1981.
4. Yessaian N. A., Armenian A. R., Buniatian H. Ch. *J. Neurochem.*, v. 16, p. 1425—1431, 1969.
5. Армения А. Р. *Вопр. биохимии мозга*, т. 14, с. 143—148, Изд-во АН АрмССР, 1980.

6. Llorens C., Martres M. P., Bandry M., Schwartz J. C. *Nature* (London), v. 274, 603—605, 1978.
7. Malfroy B., Swerts J. P., Guyon A., Roques B. P., Schwartz J. C. *Nature* (London), v. 276, p. 523—526, 1978.
8. Iwatsubo K., Kando Y.—In: *Characteristics and Function of Opioids*, (J. M. van Ree and L. Terenius, eds), p. 357—358, Elsevier North-Holland Biochemical Press, Amsterdam, New York and Oxford, 1978.
9. Hajos F. *Brain Res.*, v. 93, p. 485—489, 1975.
10. Ralteri M., Angelini F., Levi G. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 25, p. 411—414, 1974.
11. Palkovits M., Jacobowitz D. M. *J. Comp. Neurol.*, v. 157, p. 29—42, 1974.
12. Saavedra J. M., Grobecker H., Zivin J. *Brain Res.*, v. 114, p. 339—345, 1976.
13. Frankhuyzen A. L., Mulder A. H. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 63, p. 179—182, 1980.

Поступила 1. III 1985

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ!

Научно-технический совет Минвуза СССР сообщает, что Приказом Минвуза СССР от 13. II. 84 г. № 742 утверждены Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных.

Аналогичные Правила действуют в учреждениях систем Академии наук СССР, Министерства здравоохранения СССР, Министерства сельского хозяйства СССР.

Правила преследуют цель:

- повысить качество научных и других видов работ с животными
- обеспечить принципы гуманного обращения с животными.

Сообщаем, что в представляемых для публикации статьях авторы должны указывать вид и количество используемых животных, применявшиеся методы обезболивания и эвтаназии.

Редколлегия не будет принимать к публикации статьи, в которых не указываются эти данные.