

УДК 612.8.015

Академик АН Армянской ССР Г. Х. Бунятян,
 Б. А. Казарян, Г. А. Михайлов

**Проникновение гамма-аминомасляной кислоты
 через гемато-энцефалический барьер**

(Представлено 30/ХІ 1968)

Вопрос о проникновении гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) через гемато-энцефалический барьер (ГЭБ) и механизм ее центрального действия до сих пор остается в центре внимания исследователей. По данным ряда авторов, у взрослых животных ГАМК не проникает через ГЭБ (1-3) и для прохождения ее через указанный барьер необходимо нарушение его целостности (4,5), хотя в исследованиях Эллотта и сотр. (5) наблюдалось проникновение ГАМК и через неповрежденные участки коры мозга. Однако эти опыты были проведены на животных, находившихся под наркозом, при котором изменяется функция ГЭБ.

Исследования, проведенные нами (6), показали, что интракаротидное введение ГАМК собакам сопровождается усиленным выделением ее из мозга в первые минуты после введения. При дальнейшем исследовании было обнаружено, что внутрибрюшинное введение ГАМК крысам приводит к уменьшению содержания ее свободной и связанной форм в коре головного мозга и к увеличению количества ее свободной формы в гипоталамусе, при этом общее содержание ГАМК в мозгу не изменяется (7). Неизменное содержание ГАМК в мозгу после введения даже ее массивных доз, что наблюдалось у ряда авторов, по-видимому, обуславливается тем, что она, проникая в мозг быстро покидает его. Ряд исследований, проведенных в последние годы, косвенно подтверждают возможность проникновения ГАМК в мозг (8-12). Для окончательного выяснения этого вопроса нами проводились исследования с меченой ГАМК, результаты которых приводятся в данной статье.

Для опытов были использованы белые крысы весом 100—110 г. Животным внутрибрюшинно вводили 5 мккюри 1—4—C¹⁴—ГАМК с 8 мкг неактивной ГАМК. Радиоактивная экспозиция длилась от 2 до 45 минут, после чего животных декапитировали и исследовали содержание и удельную активность (УА) ГАМК в крови и мозгу. Количество ГАМК в крови определяли методом электрофоретического разделения на бумаге по

Гроссману и сотр. (13), с некоторыми изменениями, описанными нами ранее (6,7). Для определения радиоактивности аминокислот вырезали соответствующие участки по R_f с неокрашенных электрофореграмм, элюировали 50%-ным этанолом и элюат количественно переносили на металлические тарелочки. Мозг после декапитации быстро извлекали и последующую обработку его проводили при 0°C. Разделение аминокислот проводили с помощью восходящей хроматографии на бумаге Ватман 3 в смеси фенол—этанол—вода— NH_3 (60 г + 20 мл + 20 мл + 0,5 мл) в течение 48 часов (14). Местоположение аминокислот определяли по сравнению с проявленными хроматограммами. Пятна вырезали, аминокислоты элюировали 50%-ным этанолом и переносили на тарелочки. Величину активности остатков определяли с помощью торцового счетчика типа Т-25 БФЛ на установке «Волна».

Из данных, приведенных в табл. 1, видно, что введенная ГАМК быстро поступает в кровь. Через 2 минуты после введения удельная активность ГАМК в крови имеет максимальное значение—100000 имп./мин/мг. В последующие промежутки времени УА ГАМК падает по мере утилизации этой кислоты различными органами. Радиоактивный углерод обнаруживается в мозгу при весьма кратковременной экспозиции—через 2 минуты после внутрибрюшинного введения меченой ГАМК. Для правильного представления о проникновении меченой ГАМК, а также других радиоактивных веществ из крови в мозг необходимо учитывать содержание метки в крови самой мозговой ткани. Для этой цели мы использовали имеющиеся литературные данные относительно количества крови на единицу веса мозга. Исследованиями Джарман и сотр. (15) установлено, что в 1 г целого мозга крысы содержится 0,02 мл крови, при сохранении всех кровеносных сосудов мозга. В наших исследованиях мозг освобождали от сосудистой оболочки и крупных кровеносных сосудов. Несмотря на это, мы высчитывали активность ГАМК в 0,02 мл крови в различные сроки экспозиции и соответствующие величины вычитывали из активности ГАМК, обнаруженной в 1 г мозга. Как видно из приведенной таблицы, содержание ГАМК в мозгу после ее внутрибрюшинного введения (8 мг) в течение 45 минут особым изменениям не подвергается. В крови через 2 минуты обнаруживается ГАМК и содержание ее в течение 45 минут колеблется в пределах 0,7—1,9 мг %, при этом УА ГАМК по мере удлинения срока экспозиции постепенно понижается. Что касается УА ГАМК в мозгу, то она через 2 минуты составляет 151 имп./мин/мг, примерно на таком уровне она сохраняется и на 7-й минуте. При вычете активности ГАМК, соответствующей 0,02 мл крови, в указанные промежутки времени обнаруживается заметное количество меченой ГАМК в мозгу (табл. 1), причем за это время метка не была обнаружена в глутаминовой, аспарагиновой кислотах, глутамине и аланине.

Полученные данные позволяют заключить, что ГАМК проникает в мозг.

Интерес представляют результаты, полученные на 15-, 30- и 45-й минутах после введения ГАМК. Несмотря на понижение УА ГАМК в крови, УА ГАМК в мозгу значительно повышается, составляя 288—700 имп./мин/мг. По-видимому, за этот промежуток времени в периферических органах из меченой ГАМК образуется соответствующие метаболиты, которые в периферических органах и в самом мозгу переходят в глутаминовую кислоту, а последняя может стать источником образования

Таблица 1

Содержание и радиоактивность ГАМК в крови и в мозгу

| Экспозиция, мин | К р о в ь | | | | М о з г | | | |
|-----------------|-------------------------------------|----------------------|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|----------------------|--------------------------------------|---|
| | Содержание ГАМК, мг ⁰ /о | УА ГАМК, имп./мин/мг | Количество ГАМК, мкг в 0,02 мл | Активность ГАМК, имп./мин в 0,02 мл | Содержание ГАМК, мг ⁰ /о | УА ГАМК, имп./мин/мг | Активность ГАМК, имп./мин в 12 ткани | Активность ГАМК, имп./мин в 12 мозга с вычетом активности 0,02/мл крови |
| 2 | 0,9 | 100000 | 0,18 | 18 | 22 | 151 | 33 | 15 |
| 3,5 | 0,7 | 65700 | 0,14 | 9 | 24 | 104 | 25 | 16 |
| 5,5 | 1,2 | 62160 | 0,25 | 15 | 20 | 143 | 29 | 14 |
| 7 | 0,7 | 33300 | 0,14 | 5 | 21 | 198 | 42 | 37 |
| 15 | 1,9 | 7910 | 0,38 | 3 | 21 | 288 | 60 | 57 |
| 30 | 1,8 | 4650 | 0,36 | 2 | 22 | 241 | 53 | 51 |
| 45 | 0,7 | 15300 | 0,14 | 2 | 22 | 700 | 154 | 152 |

ГАМК в мозгу. В пользу этого предположения свидетельствуют те факты, что после введения меченой ГАМК метка была обнаружена в глутаминовой, аспарагиновой кислотах, глутамине и аланине в крови и в мозговой ткани. Не исключена возможность, что ГАМК в первые минуты после ее введения захватывается периферическими органами, в частности печенью, и затем выбрасывается в кровь и далее поступает в мозг. По всей вероятности этот процесс приобретает особое значение на 45-й минуте, когда УА ГАМК в крови и в мозгу значительно возрастает по сравнению с другими сроками экспозиции.

Таким образом, результаты настоящих исследований позволяют заключить, что ГАМК проникает через гемато-энцефалический барьер, что представляет несомненный интерес в объяснении механизма ее центрального действия.

Институт биохимии Академии наук
Армянской ССР

Հայկական ՍՍՀ ԳԱ ակադեմիկոս Հ. Խ. ԲՈՒՆՅԱԹՅԱՆ, Թ. Ա. ՂԱԶԱՐՅԱՆ, Գ. Ա. ՄԻՆԱՅԼՈՎ

Արյունա-ուղեղային պատնեշի քափանցելիությունը
գամմա-ամինոկարազաթթվի հանդեպ

Մեր կողմից կատարված մի շարք հետազոտությունների արդյունքները վկայում էին այն մասին, որ գամմա-ամինոկարազաթթուն (ԳԱԿԹ) թափանցում է արյունա-ուղեղային պատ-

նելու Այս խնդիրը վերջնականապես պարզելու համար հետազոտություններ են տարվել հա-
վասարաչափ նշված ԳԱԿԹ-ով (1-4-¹⁴C-ԳԱԿԹ):

Կատարված փորձերը ցույց տվեցին, որ նշված ԳԱԿԹ-ն, երբ այն ներարկվում է ներորով-
այնային սպիտակ առնետներին, ի հայտ է գալիս ուղեղային հյուսվածքում: Հատկանշական է
այն, որ 2-ից մինչև 7-րդ րոպե ներարկումից հետո ուղեղային հյուսվածքում ռադիոակտիվու-
թյունը վերաբերում է միայն ԳԱԿԹ-ին, մինչդեռ մյուս ամինոթթուները (գլյուտամինոթթու,
ասպարագինաթթու, գլյուտամին, ալանին) այդ ակտիվությունից զուրկ են: Վերջիններին մեջ
ռադիոակտիվությունը ի հայտ է գալիս նշված ԳԱԿԹ-ի ներարկումից 7 րոպե հետո և աստի-
ճանաբար մեծանում մինչև 45-րդ րոպեն: Համապատասխանորեն մեծանում է նաև ԳԱԿԹ-ի
ռադիոակտիվությունը:

Հետաքրքիր է նաև այն, որ ԳԱԿԹ-ի քանակը ամբողջական ուղեղում չի փոփոխվում, շնա-
չած նրան, որ նշված ԳԱԿԹ-ի հետ ներարկվում է նաև 8 մգ/կգ կենդանի քաշին սովորական
ԳԱԿԹ:

Ստացված արդյունքները բերում են այն եզրակացության, որ ԳԱԿԹ-ն հասուն սպիտակ
առնետների մոտ թափանցում է արյունա-ուղեղային պատնեշով դեպի ուղեղ:

Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

- ¹ B. Siskin, K. Sano and E. Roberts, J. Biol. Chem., 236, 503 (1961). ² D. P. Purpura, M. W. Carmichael, Science, 131, 410 (1960). ³ N. M. van Gelder, K. A. C. Elliott, J. Neurochem., 3, 139 (1958). ⁴ D. P. Purpura, M. Girado, F. Smith, and J. Gomez, Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med., 97, 348 (1958). ⁵ P. Strasberg, K. Krnjenc, S. Schwartz and K. A. C. Elliott, J. Neurochem., 14, 756 (1967). ⁶ Г. Х. Бунятян, Б. А. Казарян, К. Г. Карагезян, Э. А. Гулян, ДАН АрмССР, т. 40, 289 (1965). ⁷ Б. А. Казарян, Э. А. Гулян, Вопросы биохимии мозга, Изд. АН АрмССР, 3, 85 (1967). ⁸ М. Н. Маслова, И. А. Сытинкий, Обмен аминокислот, Изд. АН ГрузССР, 1967. ⁹ P. Wiechert, P. Schroter, Acta Biol. et Med. German, 12, 475 (1964). ¹⁰ P. Wiechert, Acta Biol. et Med. German, 10, 305 (1963). ¹¹ R. Kamrin and A. Kamrin, J. Neurochem. 6, 219 (1961). ¹² J. D. Wood, W. J. Watson, and J. Clidestall, J. Neurochem., 10, 625 (1963). ¹³ W. Grossman, E. Haning and M. Plocke, Z. phys. Chem., 299, 258 (1955). ¹⁴ J. R. Lindsey, H. S. Bachdard, Biochem. Pharm., 15, 1045 (1966). ¹⁵ N. J. Giarmann and R. H. Roth, Science, 145, 583 (1964).