

УДК 547.446.24 : 612.8.82

БИОХИМИЯ

П. В. Тозалакян, Н. А. Есаян

Регуляция вызванного высвобождения ^3H -норадреналина
 γ -аминомасляной кислотой в мозгу крыс

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятяном 31/1 1978)

В последние годы все большее внимание привлекают работы, посвященные взаимодействию нейромедиаторов в мозговой деятельности в норме и при ее нарушениях. В настоящее время накоплено достаточное количество фактов, доказывающих существование механизма взаимодействия нейромедиаторов, которое обуславливается наличием рецепторов на пресинаптических мембранах, селективных к различным медиаторам (1 - 2). Однако из большого числа веществ, являющихся пресинаптическими регуляторами высвобождения норадреналина (НА) из периферических нейронов, по существующим в настоящее время данным лишь небольшая часть (α -адренэргические агонисты, простагландины, наркотики-анальгетики) являются эффективными в ЦНС (3). Работы, проведенные в нашей лаборатории, указывают на участие γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) в пресинаптической регуляции высвобождения НА в мозгу. Это заключение было сделано на основе уменьшения количества НА из богатых норадренэргическими нервными окончаниями областей мозга крыс в опытах *in vivo* и *in vitro* под действием определенных концентраций ГАМК (4 - 5), а также отсутствия эффекта ГАМК на захват и метаболизм НА в условиях эксперимента (6) и изменения высвобождения НА под действием пикротоксина и бикикуллина (7).

Исходя из того, что взаимодействие нейромедиаторов имеет особенно большое физиологическое значение при нейрональной активности, в настоящей работе нами было изучено действие ГАМК (эндогенной и экзогенной) на высвобождение ^3H -НА под действием 40 мМ K^+ .

Опыты ставили на белых крысах весом 120—150 г. Животных обезглавливали и мозг быстро извлекали в холодных условиях. Брали по 2 среза (15 мг) из контралатеральных частей гипоталамуса каждой крысы. Срезы инкубировали в Krebs-бикарбонатном буфере (с расчетом по 2 мл на каждый срез) рН 7,4, при 37 С, 5 мин, после чего в инкубационную среду добавляли ^3H -НА (удельная активность 9,1 Кюри/ммоль) в конечной концентрации 10^{-7} М и продолжали инкубацию 30 мин. Затем

срезы извлекали, промывали 6 мин в холодном буфере и помещали на специальные держатели, и срезы на них переносили из одного инкубационного сосудика в другой. Там, где это было необходимо, к инкубационной среде добавляли ГАМК (10^{-3} М) или бичукуллин ($3 \cdot 10^{-3}$ М или $3 \cdot 10^{-6}$ М). Избыток ионов K^+ достигался увеличением концентрации KCl и соответствующим уменьшением $NaCl$. Срезы инкубировали 28 мин для удаления неспецифически связанного 3H -НА, после чего отбирали пробы. После окончания инкубации среду заливали сцинтилляционной смесью на основе диоксана и измеряли радиоактивность.

Таблица 1

Действие бичукуллина на вызванное высвобождение НА

Состав среды	Радиоактивность среды в момент стимула
	Радиоактивность среды до введения бик., или K^+
40 мМ K^+	3,66
40 мМ K^+ + ГАМК	4,08
40 мМ K^+ + бик. $3 \cdot 10^{-3}$ М	4,52
40 мМ K^+ + бик. $3 \cdot 10^{-6}$ М	4,70
40 мМ K^+ + бик. $3 \cdot 10^{-6}$ М + ГАМК	3,40

Полученные результаты изображены на рис. 1 и приведены в табл. 1. Добавление бичукуллина в конечной концентрации $3 \cdot 10^{-3}$ М (рис. 1, в) приводило к небольшому усилению K^+ — вызванного (40 мМ) высвобождения 3H -НА и к значительному усилению спонтанного высвобождения 3H -НА (ср. рис. 1, а и в). При уменьшении концентрации

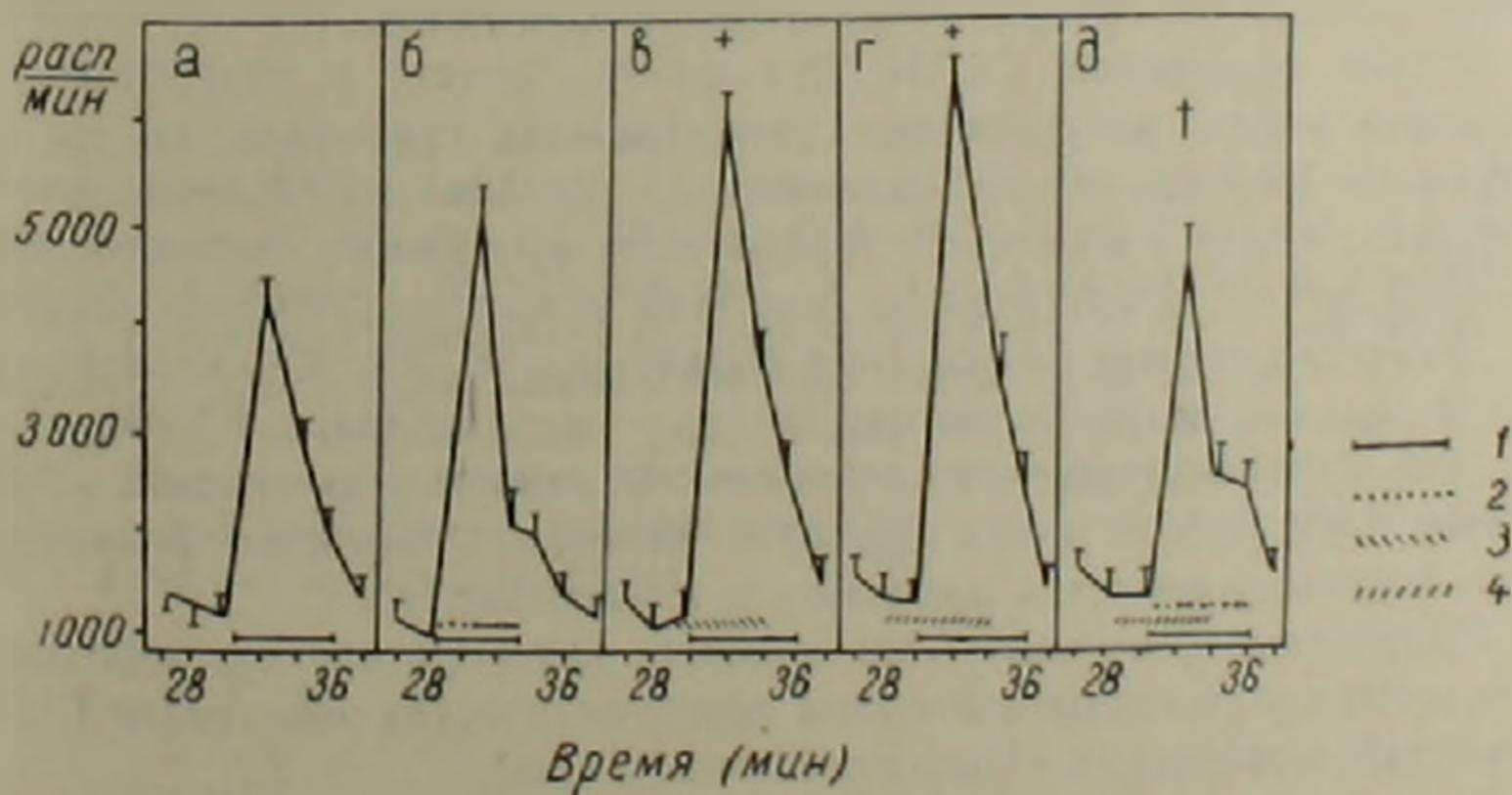


Рис. 1. Высвобождение 3H -НА из гипоталамических срезов под действием 1—40 мМ K^+ ; 2—в присутствии ГАМК 10^{-3} М; 3—бичукуллин $3 \cdot 10^{-3}$ М; 4—бичукуллин $3 \cdot 10^{-6}$ М. Средние данные 6 опытов.

• $P < 0,05$ по сравнению с а.
+ $P < 0,05$ по сравнению с 2.

бикуккуллина в 10 раз (рис. 1,з), несмотря на исчезновение его эффекта на спонтанное высвобождение ^3H -НА, K^+ -вызванное высвобождение по-прежнему значительно усиливалось. Добавление ГАМК (10^{-3}M) к инкубационной среде, содержащей бикуккуллин (рис. 1,д), приводило к снижению радиоактивности в среде до уровня, наблюдаемого при добавлении одного K^+ (ср. рис. 1,а и д), тогда как в отсутствие бикуккуллина ГАМК почти на 30% усиливает высвобождение ^3H -НА (рис. 1,а и б), вызванное 40 mM K^+ .

Необходимо учесть, что K^+ -вызванное высвобождение ^3H -НА, полученное в наших экспериментах, является результатом действия стимула, модифицированного медиаторами (в том числе и ГАМК), одновременно высвобожденными из соседних нервных окончаний. Значительное усиление K^+ , вызванного высвобождения НА при блокаде рецепторов ГАМК бикуккуллином является результатом снятия эффекта эндогенной ГАМК на высвобождение ^3H -НА. Эти данные свидетельствуют о модулирующем действии эндогенной ГАМК на высвобождение НА при физиологических условиях. Уменьшение высвобождения ^3H -НА, вызванного 40 mM K^+ при отсутствии блокады рецепторов ГАМК бикуккуллином позволяет сделать вывод о том, что эндогенная ГАМК в этом случае оказывает подавляющее действие на высвобождение норадреналина из нервных окончаний. Полученное ранее (⁵) слабое усиление спонтанного высвобождения ^3H -НА свидетельствует о деполяризации γ -аминомасляной кислотой мембран норадренэргических окончаний. Прямые доказательства деполяризации мембран норадренэргических нейронов верхних шейных ганглиев под действием ГАМК приводятся в электрофизиологических исследованиях (^{6,9}). В то же время в нашей лаборатории показано, что ГАМК уменьшает электрически вызванное высвобождение ^3H -НА из семявыводящего протока, где практически отсутствует эндогенная ГАМК. Эти факты, вместе с полученными в настоящей работе результатами (рис. 1,а и з) указывают на то, что эндогенная ГАМК, высвобожденная из соседних ГАМК-эргических окончаний, может приводить к торможению вызванного высвобождения НА посредством деполяризации мембран норадренэргических окончаний. Заметная тенденция усиления вызванного 40 mM K^+ высвобождения ^3H -НА из гипоталамических срезов при добавлении ГАМК, является результатом суммарного действия эндогенной и экзогенной ГАМК и может служить еще одним примером изменения поведения физиологически активного вещества при высоких концентрациях.

Полученные результаты мы склонны интерпретировать как доказательство в пользу существования пресинаптических рецепторов ГАМК на норадренэргических окончаниях в мозгу крыс.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

Առնետի ուղեղում յրդման ի պատասխան ՆԱ-ի անջատման կանոնավորումը
 γ-ամինակարագաքրվով

Վերջին տարիներին նորադրենալինի (ՆԱ-ի) անջատման պրեսինասպտիկ կանոնավորման առկայությունը ապացուցող մեծ թվով փաստեր են կուտակված: Ուղեղում նման ազդեցություն ցուցաբերող նյութերի թիվը խիստ սահմանափակ է: Նեյրոմեդիատորների փոխազդեցության վերաբերյալ մեր լարորատորիայում՝ ստացված տվյալները ցույց են տալիս ուղեղում ԳԱԿՔ-ի կանոնավորիչ դերը՝ ՆԱ-ի անջատման վրա: Ներկա աշխատանքում ուսումնասիրվել է 40 mM K^+ -ին ի պատասխան H^+ -ՆԱ-ի անջատման վրա էկզոզեն և էնդոզեն ԳԱԿՔ-ի ազդեցությունը:

Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ բիկուկուլինի ներկայությամբ յրդման ի պատասխան H^+ -ՆԱ-ի անջատումը ղգալիորեն ուժեղանում է: ԳԱԿՔ-ի ավելացումը բիկուկուլին պարունակող ինկուբացիոն միջավայրին բերում է ՆԱ-ի անջատման թուլացման, մինչդեռ էնդոզեն և էկզոզեն ԳԱԿՔ-ի գումարային ազդեցությունը բիկուկուլինի բացակայության պայմաններում առաջացնում է ՆԱ-ի անջատման ուժեղացում:

Ներկայացված տվյալները խոսում են այն մասին, որ հիպոթալամիկ շրջանում ԳԱԿՔ-ը հանդես է գալիս որպես H^+ -ՆԱ-ի՝ յրդման ի պատասխան անջատման արգելակիչ: Այն փաստը, որ ներկա աշխատանքում հաջողվել է ցույց տալ H^+ -ՆԱ-ի անջատման արգելակում էնդոզեն ԳԱԿՔ-ով, խոսում է այն մասին, որ այս երևույթը ամենայն հավանականությամբ տեղի ունի ֆիզիոլոգիական պայմաններում:

ЛИТЕРАТУРА — ԿՐԻԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

¹ S. Z. Langer, Br. J. Pharmac., 60, 481-497 (1977). ² L. Stjärne, in Handbook of Psychopharmacology, ed. by L. L. Iversen, S. D. Iversen and S. H. Snyder, Plenum Press, New York, 6, 179-233, 1975. ³ K. Starke, H. D. Taube and E. Borowski, Biochem. Pharmacol., 26, 259-268, 1977. ⁴ N. H. Yessalan, A. R. Armentian and H. Ch. Buntatian, J. Neurochem., 16, 1425-1433 (1969). ⁵ H. B. Ծոզալակյան, Ա. Ա. Դեմիրչյան և Մ. Ա. Եսայան, Вопросы биохимии мозга, Изд. АН Арм. ССР, 12, 127-136 (1977). ⁶ Մ. Ա. Եսայան, Докт. дисс., Ереван, 1971. ⁷ N. H. Yessalan, A. H. Demirjian and P. V. Tozalakian, J. Neurochem., 28, 1151-1153 (1977). ⁸ W. C. Dicroat, J. Pharm. exp. Ther., 172, 384-396 (1970). ⁹ N. G. Bowery and D. A. Brown, Br. J. Pharmac., 50, 205-218 (1974).