

УДК 616—036.882—08:615.3

Г. С. ХАЧАТРЯН, К. А. КАЗАРЯН

ДЕЙСТВИЕ АДЕНОЗИНА И ГУАНОЗИНА НА СОДЕРЖАНИЕ
СЕРОТОНИНА И КАТЕХОЛАМИНОВ В МОЗГЕ В
ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ СМЕРТИ

Показано запаздывание процессов нормализации концентрации биоактивных веществ в мозге в восстановительном периоде после терминальных состояний.

На основе количественной характеристики содержания серотонина, норадреналина и дофамина в целом мозге и его отделах при экспериментальной клинической смерти и в восстановительном периоде выявлено ускорение нормализации уровня содержания исследуемых моноаминов при действии экзогенно введенных препаратов аденозина и гуанозина.

Анализ полученных нами данных, касающихся характеристики количественных сдвигов в содержании серотонина, норадреналина и дофамина в целом мозге и его отделах при терминальных состояниях и в восстановительном периоде [1, 6], показывает, что нормализация количественных показателей моноаминов в целом мозге и различных его отделах происходит в основном на 80-й мин после оживления организма. По сравнению с компонентами энергетического обмена [4, 7] обнаруживается запаздывание процессов нормализации концентрации биоактивных веществ, и не всегда наблюдается прямая зависимость между временем восстановления соотносительных уровней изучаемых моноаминов и физиологических функций организма.

Учитывая важное значение своевременной нормализации соотносительных уровней биологически активных веществ в мозге в норме и при патологических состояниях, в особенности в уравнивании процессов возбуждения и торможения, нарушенных при терминальных состояниях, становится очевидным необходимость направленного воздействия на ускорение процессов биосинтеза и мобилизации физиологически активных веществ в мозге и эффекторных органах. С этой целью мы исследовали воздействие различных индукторов из группы природных соединений на содержание моноаминов в мозге в восстановительном периоде после экспериментальной клинической смерти. Ниже приводятся результаты наших исследований по изучению влияния нуклеозидов (аденозин, гуанозин) на количественную характеристику моноаминов в мозге.

Материал и методы исследования

Исследования проводили на белых крысах-самцах массой 200—250 г. Аденозин и гуанозин (фирмы «Sigma») вводили в концентрации

50 и 100 мкг на 200 г массы вместе с выпущенной кровью при оживлении организма. Содержание серотонина и катехоламинов определяли в целом мозге на 20-й мин после оживления организма [5, 3]. Подопытных животных в нужный момент исследования замораживали в жидком азоте для фиксации и регистрации биохимических сдвигов в мозге.

Серотонин определяли в одной пробе мозговой ткани вместе с норадреналином и дофамином спектрофлуориметрическим методом Udenfriend и др. [15] в описании Ansell, Beeson [8]. Мозговую ткань гомогенизировали в кислом бутаноле. После экстракции моноаминов их переводили в водную фазу, затем добавляли 2 М уксуснокислый натрий, после чего катехоламины адсорбировали на окиси алюминия. Дальнейшее определение серотонина и катехоламинов проводили отдельно. Для определения серотонина проводили щелочную экстракцию бутанолом в боратном буфере, рН 10, затем переводили серотонин в фосфатный буфер, рН 7, где после добавления нингидрина и нагревания в водяном термостате при 75° в течение 30 мин и дальнейшем стоянии при комнатной температуре не менее одного часа развивалась флуоресценция нингидринового производного серотонина. Пик возбуждения серотонина—385 мкм, пик флуоресценции—495 мкм. После адсорбции окись алюминия промывали водой, затем элюировали 0,25 М уксусной кислотой, рН элюата доводили до 6,5. Флуоресцирующие продукты получали триоксиндоловым методом. В качестве окислителя применяли йод. Пики возбуждения норадреналина и дофамина соответствовали 385 и 320 мкм, а пики флуоресценции—485 и 370 мкм.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования, приведенные в табл. 1, показывают достоверное понижение содержания серотонина, норадреналина и дофамина в мозге при экспериментальной клинической смерти. При этом концентрация норадреналина уменьшается более чем в 3 раза, дофамина—почти в два раза. В восстановительном периоде содержание серотонина на 20-й мин приближается к норме, в то время как содержание норадреналина оказывается значительно ниже контрольного уровня. Содержание дофамина также достоверно понижено. На 40 и 80-й мин исследования уровень содержания серотонина нормализуется. Однако концентрация норадреналина на 40-й мин продолжает отставать от контрольного уровня и только на 80-й мин приближается к уровню контроля. Нормализация уровня содержания дофамина также наступает на 80-й мин после восстановления жизненных функций организма. Таким образом, нормализация соотносительных уровней содержания норадреналина и дофамина наступает лишь на 80-й мин исследования.

С целью изыскания средств, ускоряющих нормализацию уровня содержания моноаминов в мозге в восстановительном периоде после терминальных состояний организма, мы испытали действие экзогенно вве-

дечных аденозина и гуанозина. Результаты проведенных исследований показали (табл. 2), что аденозин в концентрации 50 и 100 мкг/200 г массы животного вызывает раннюю нормализацию содержания серотонина, которое уже на 20-й мин после оживления организма соответственно составляет $0,745 \pm 0,097$ и $0,707 \pm 0,040$ мкг/г ткани, что несколько выше уровня контроля. Характерно, что эффект от малой концентрации аденозина оказался сравнительно больше, чем от удвоенной его concentra-

Таблица 1

Содержание моноаминов в мозге при экспериментальной клинической смерти и в восстановительном периоде в мкг/г ткани

Моноамины	Средние данные	Контроль	Клиническая смерть	После оживления		
				20-я мин	40-я мин	80-я мин
Серотонин	$M \pm m$	$0,599 \pm 0,027$	$0,396 \pm 0,023$	$0,536 \pm 0,035$	$0,606 \pm 0,026$	$0,602 \pm 0,041$
	$\frac{n}{P_1}$	$\frac{16}{}$	$\frac{8}{<0,001}$	$\frac{12}{<0,2}$	$\frac{6}{>0,5}$	$\frac{6}{>0,5}$
Норадреналин	$M \pm m$	$0,408 \pm 0,017$	$0,112 \pm 0,009$	$0,202 \pm 0,017$	$0,299 \pm 0,016$	$0,370 \pm 0,018$
	$\frac{n}{P_1}$	$\frac{13}{}$	$\frac{8}{<0,001}$	$\frac{12}{<0,001}$	$\frac{6}{<0,001}$	$\frac{6}{<0,2}$
Дофамин	$M \pm m$	$1,310 \pm 0,039$	$0,793 \pm 0,034$	$1,071 \pm 0,038$	$1,253 \pm 0,029$	$1,296 \pm 0,031$
	$\frac{n}{P_1}$	$\frac{16}{}$	$\frac{8}{<0,001}$	$\frac{12}{<0,001}$	$\frac{6}{<0,5}$	$\frac{6}{>0,5}$

Таблица 2

Содержание моноаминов в мозге в восстановительном периоде при действии аденозина и гуанозина в мкг/г ткани

Моноамины	Средние данные	20-я мин после оживления			
		аденозин		гуанозин	
		50 мкг	100 мкг	50 мкг	100 мкг
Серотонин	$M \pm m$	$0,745 \pm 0,097$	$0,707 \pm 0,040$	$0,640 \pm 0,101$	$0,720 \pm 0,047$
	$\frac{n}{P_1}$	$\frac{4}{<0,2}$	$\frac{4}{<0,05}$	$\frac{4}{>0,5}$	$\frac{4}{<0,05}$
	P_2	$<0,1$	$<0,01$	$<0,5$	$<0,01$
Норадреналин	$M \pm m$	$0,309 \pm 0,049$	$0,283 \pm 0,028$	$0,341 \pm 0,031$	$0,314 \pm 0,041$
	$\frac{n}{P_1}$	$\frac{4}{<0,1}$	$\frac{4}{<0,01}$	$\frac{4}{<0,1}$	$\frac{4}{<0,05}$
	P_2	$<0,1$	$<0,05$	$<0,01$	$<0,05$
Дофамин	$M \pm m$	$1,547 \pm 0,148$	$1,713 \pm 0,129$	$1,792 \pm 0,155$	$1,868 \pm 0,175$
	$\frac{n}{P_1}$	$\frac{4}{<0,2}$	$\frac{4}{<0,01}$	$\frac{4}{<0,01}$	$\frac{4}{<0,01}$
	P_2	$<0,01$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$

Примечание. P_1 —показатель достоверности по сравнению с данными контроля. P_2 —показатель достоверности по сравнению с данными опытов на 20-й мин без применения нуклеозидов.

ции. Как показывают данные табл. 2, введенный гуанозин также вызывает повышение содержания серотонина на 20-й мин после оживления организма. Однако максимальный эффект действия гуанозина отмечается при концентрации 100 мкг/200 г массы животного.

Аденозин и гуанозин, введенные в концентрации 50 мкг/200 г, на 20-й мин восстановительного периода вызывают повышение содержания

норадреналина. Выявленное повышение содержания норадреналина по сравнению с данными опытов без применения аденозина и гуанозина на 20-й мин после оживления (табл. 1) соответственно составляет 53 и 68%. Ранняя нормализация уровня содержания норадреналина в восстановительном периоде наступает также от большей концентрации аденозина и гуанозина (100 мкг/200 г). Однако меньшая концентрация как аденозина, так и гуанозина дает лучший эффект, чем большая их концентрация.

Аденозин и гуанозин в использованных концентрациях вызывают резкое повышение содержания дофамина в мозге на 20-й мин после восстановления жизненных функций организма по сравнению с данными, полученными у крыс без введения нуклеозидов. Максимальное повышение содержания дофамина при введении аденозина и гуанозина отмечается при концентрации 100 мкг/200 г. Содержание дофамина при этом составляет в случае введенного аденозина $1,713 \pm 0,129$, а в случае введенного гуанозина— $1,868 \pm 0,175$ мкг/г ткани. В отношении повышения содержания дофамина так же, как и в случае с норадреналином, гуанозин является более эффективным индуктором, чем аденозин.

Ряд авторов отмечают стимулирующее влияние аденозина на активность аденилатциклазы и на накопление 3',5'-АМФ в различных тканях организма животных [9, 10, 12—14]. Накопление цАМФ под действием аденозина, по-видимому, обусловливается как положительным его действием на аденилатциклазу, так и использованием его в синтезе 3',5'-АМФ. При различных по природе экстремальных воздействиях отмечается начальное повышение концентрации цАМФ, сменяющееся ее прогрессирующим снижением, вплоть до величин, ниже исходных [2]. По данным Ока, Izumi [11], циклические нуклеотиды активируют синтез катехоламинов на стадии тирозингидроксилазы.

Результаты проведенных нами исследований показывают, что в восстановительном периоде после оживления организма экзогенно введенные аденозин и гуанозин становятся важными стимуляторами в нормализации уровня серотонина, норадреналина и дофамина. Гуанозин проявляет свое максимальное действие, в первую очередь, на нормализацию уровня дофамина, а затем—норадреналина и серотонина. Таким образом, можно заключить, что экзогенно введенные аденозин и гуанозин способствуют более быстрой нормализации уровней серотонина, норадреналина и дофамина в восстановительном периоде после оживления организма.

Результаты исследований положительного действия экзогенно введенных аденозина и гуанозина на содержание исследуемых моноаминов в восстановительном периоде после оживления организма позволяют допустить возможность использования этих нуклеозидов в целях профилактики и терапии терминальных состояний. Кроме того, полученные нами данные могут послужить основой для дальнейшего более глубокого и детального исследования действия нуклеозидов на нормализацию со-

держания серотонина, норадреналина и дофамина в восстановительном периоде на уровне ферментов их синтеза и деградации.

НИИ биосинтетических реакций мозга
Ереванского медицинского института

Поступила 27/1 1980

Գ. Ս. ԽԱՉԱՏՐԻԱՆ, Կ. Հ. ՂԱԶԱՐԻԱՆ

ԱԴԵՆՈԶԻՆԻ ԵՎ ԳՈՒԱՆՈԶԻՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՍԵՐՈՏՈՆԻՆԻ
ԵՎ ԿԱՏԵԽՈԼԱՄԻՆՆԵՐԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ ԳԼԽՈՒՂԵՂՈՒՄ
ՎԵՐԱԿԱՆԳՆՄԱՆ ՇՐՋԱՆՈՒՄ ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ԿԼԻՆԻԿԱԿԱՆ
ՄԱՀԻՑ ՀԵՏՈ

Առնետների գլխուղեղում ցույց է տրված բերականիվ նյութերի կոնցենտրացիայի մակարդակի նորմալացման ուղացում վերականգնման շրջանում՝ սահմանային վիճակներից հետո:

Գլխուղեղում և նրա բաժիններում փորձարարական կլինիկական մահվան և վերականգնման շրջանում սերոտոնինի, նորադրենալինի և դոֆամինի պարունակության քանակական բնութագրման հիման վրա հայտնաբերված է ուսումնասիրված մոտամիներների պարունակության մակարդակի նորմալացման արագացում ադենոզինի և գուանոզինի պրեպարատների ներմուծման ժամանակ:

G. S. KHACHATRIAN, K. GH. KAZARIAN

THE EFFECT OF ADENOSINE AND GUANOSINE ON THE CONTENT OF SEROTONIN AND CATECHOLAMINES IN BRAIN DURING THE RESTORATION PERIOD FOLLOWING THE EXPERIMENTAL CLINICAL DEATH

The lag of normalising process of bioactive substances concentrated in brain in restoration period after the terminal states was shown. On the base of serotonin, norepinephrine and dophamine content quantitative characteristics in the whole brain and in its sepearte parts during the clinical death and restoration period there was revealed an acceleration of normalisation of examined monoamines content level during the influence of exogenously introduced preparations of adenosine and guanosine.

ЛИТЕРАТУРА

1. Казарян К. А. В кн.: Биологически активные вещества в норме и патологии. Ереван, 1979.
2. Кожемякин Л. А., Коростовцев Д. С., Королева Т. Р. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 1977, 84, 11, стр. 567.

3. Левин Ю. М., Словигов Б. И. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 1964, 12, стр. 27.
4. Назаретян Э. Е. Дисс. канд. Ереван, 1973.
5. Неговский В. А. Оживление организма и искусственная гипотермия. М., 1960.
6. Хачатрян Г. С., Казарян К. А. Ж. exper. и клин. мед. АН Арм.ССР, 1978, 18, 5, стр. 20.
7. Хачатрян Г. С., Назаретян Э. Е., Азгалдян Н. Р. Вопросы мед. химии, 1972, 17, стр. 591.
8. Ansell G. B., Beeson M. F. Analytical Biochem., 1968, 23, 2, 196.
9. Kuroda Y., Kobayashi K. Proc. Jap. Acad., 1978, 1354, 5, 243.
10. Mah H. D., Daly J. W. Pharmacol. Res. Commun., 1976, 8, 1, 65.
11. Oka M., Izumi F. FEBS Lett., 1975, 51, 1, 253.
12. Peck W. A., Burks J. K., Wilkins J., Rodan S. B., Rodan G. A. Endocrinology, 1977, 100, 5, 1357.
13. Premont J., Perez M., Bockaert J. Mol. Pharmacol., 1977, 13, 4, 662.
14. Roch P., Salamin A. Experimentia, 1976, 32, 11, 1419.
15. Udenfriend S., Weissbach H., Clark C. J. J. Biol. Chem., 1955, 215, 337.