



УДК 612.822.014.48:612.015.3

МЕТАБОЛИЗМ БИОГЕННЫХ АМИНОВ В СУБКЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУРАХ ДВИГАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ГИПОКИНЕЗИИ

ПАНУШЕВА Н. Н., ДОВЕДОВА Е. Л.

НИИ мозга ВНИЦ психического здоровья АМН СССР, Москва

Исследовали метаболизм биогенных аминов во фракциях синапсом (легких и тяжелых) и митохондрий, выделенных из сенсомоторной области коры больших полушарий и хвостатого ядра мозга крыс в течение длительной (до 90 суток) гипокинезии и в период реадaptации (через 30 суток после прекращения двигательного ограничения).

Обнаружены характерные для каждого срока эксперимента изменения содержания биогенных аминов—норадреналина, дофамина, серотонина и метаболита серотонина 5-оксииндолуксусной кислоты, а также активности MAO типов А и В. Показано, что 30-суточный период реадaptации после 90-суточной гипокинезии не приводит к полной нормализации исследуемых показателей метаболизма биогенных аминов.

Многочисленными исследованиями показано, что гипокинезия вызывает в организме животных и человека комплекс расстройств, выходящих далеко за пределы локомоторного аппарата и распространяющихся на все органы и системы [1—3]. Ограничение естественно-го объема мышечной деятельности в значительной степени сказывается и на функциональном состоянии НС, одним из показателей которого является уровень содержания в её структурах ряда биологически активных веществ, в частности биогенных аминов. Выполняя медиаторную и гормональную функции в ЦНС животных и человека, биогенные амины играют важную роль в регуляции многих процессов жизнедеятельности организма—циклов сна и бодрствования, мотивации, процессов обучения и памяти, а также в осуществлении и регуляции моторного поведения [4—6].

В настоящей работе изучали динамику метаболизма биогенных аминов в субклеточных фракциях, выделенных из сенсомоторной области коры больших полушарий и хвостатого ядра головного мозга крыс в различные сроки длительной гипокинезии, а также возможности нормализации исследуемых показателей при возвращении животных к нормальному двигательному режиму.

Материалы и методы

Опыты проводили на половозрелых крысах-самцах линии Вистар, массой 140—170 г. Всего в экспериментах использовали 280 животных (по 140 в контрольной и подопытных группах). Подопытных крыс содержали в течение 90 суток в индивидуальных клетках «пеналах», резко ограничивавших движения. Контрольную группу содержали в стандартных условиях вивария с однотипным пищевым и водным режимом. Исследования проводили на 30-, 60-, и 90-е сутки гипокинезии, а также через 30 суток после прекращения её действия.

Из сенсомоторной области коры больших полушарий и хвостатого ядра головного мозга крыс методом дифференциального центрифугирования [7] выделяли несчищенную митохондриальную фракцию, которую при последующем высокоскоростном центрифугировании в ступенчатом градиенте плотности сахарозы разделяли на 5 субклеточных фракций: *A* — миелин, *B* — обрывки синапсом, *C* — легкие синапсомы, *D* — тяжелые синапсомы и *E* — митохондрии [8].

Активность МАО типа *A* (субстрат — серотонин) и МАО типа *B* (субстрат — п-нитрофенилэтиламин) определяли спектрофотометрически при 250 [9] и 450 нм [10] соответственно, регистрируя образующиеся в присутствии семикарбазида продукты окислительного дезаминирования, используемых NH_2 -субстратов. В субфракциях суммарных синапсом *C, D* определяли содержание норадреналина (НА), дофамина (ДА), серотонина (5-ОТ) и 5-оксиндолуксусной кислоты (5-ОИУК) флуориметрическим методом [11]. Содержание белка (10—40 мг в пробе), а также состав инкубационной среды в контрольных и опытных пробах были одинаковы. Полученные результаты выражали в абсолютных величинах и в процентах изменения показателей по сравнению с нормой, принимаемой за 100%. Полученные результаты были статистически обработаны.

Результаты и обсуждение

В течение всего периода действия гипокинезии изменения активности МАО *A* и *B* имели одинаковую направленность (табл. 1). Первые 60 суток эксперимента характеризовались прогрессивным возрастанием активности обоих типов МАО в субклеточных фракциях сенсомоторной коры и хвостатого ядра. При этом активация МАО типа *A* была более выражена по сравнению с МАО типа *B*. В течение 3-го месяца гипокинезии активность процессов окислительного дезаминирования снижалась в субфракциях в различной степени по сравнению с её уровнем на 60-е сутки. В хвостатом ядре в течение этого срока происходила нормализация процесса за исключением субфракции *E*, где было обнаружено достоверное снижение активности МАО типа *B* по сравнению с контролем.

Сравнительный анализ изменений ферментативной активности в субклеточных фракциях сенсомоторной коры и хвостатого ядра показал, что в течение первых двух месяцев гипокинезии активация МАО типа *A* была несколько сильнее выражена в субклеточных структурах хвостатого ядра, тогда как более резкий спад активности фермента с 60-х по 90-е сутки эксперимента был отмечен в коре. Этот факт свидетельствует о большей уязвимости коры мозга в условиях гипокинезии по сравнению с хвостатым ядром.

Таблица 1

Активность МАО А ($E_{250}/\text{мг белка} \cdot 10^{-2}$) и МАО Б ($E_{450}/\text{мг белка} \cdot 10^{-2}$) в субклеточных фракциях сенсомоторной коры больших полушарий и хвостатого ядра в различные сроки гипоккинезии

Структуры головного мозга	Суб- фракции	Контроль	МАО А						Контроль	МАО Б					
			Гипоккинезия (сут.)							Гипоккинезия (сут.)					
			30		60		90			30		60		90	
			1	2	1	2	1	2		1	2	1	2	1	2
Сенсомо- торная область коры	С	46,9	60,8**	+30	79,2**	+69	29,8**	-36	53,9	60,0	+13	73,1**	+37	61,2	+15
	D	55,1	66,2	+20	88,2**	+60	36,7**	-33	60,1	64,9	+8	81,7**	+36	67,2	+12
	E	70,2	98,2**	+40	134,3**	+91	56,1	-20	70,2	79,3	+13	99,8**	+42	61,1	-13
Хвостатое ядро	С	59,6	71,0	+25	101,3**	+78	59,4	-0,3	59,0	66,8	+13	77,2**	+31	67,7	+17
	D	64,1	78,8**	+23	108,6**	+69	66,2	+3	64,9	73,2	+13	81,3**	+25	69,7	+7
	E	86,0	140,4**	+63	177,8**	+107	80,1	-7	78,2	90,7	+13	104,6*	+33	63,1*	-19

Примечание. Активность ферментов выражена в абсолютных величинах (1) и в % от контроля, принятого за 100% (2). * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$

Ограничение двигательной активности сроком до 30 суток вызывало достоверное повышение содержания НА и ДА в синаптических сенсомоторной коры на 36 и 23% соответственно (рис. 1). В течение 2-го месяца эксперимента наблюдалась тенденция к нормализации содержания обоих катехоламинов. С 60-х по 90-е сутки гипокинезии происходила дальнейшая нормализация содержания НА, тогда как содержание ДА значительно увеличивалось и в конце экспериментального воздействия было на 71% выше нормы ($p < 0,01$).

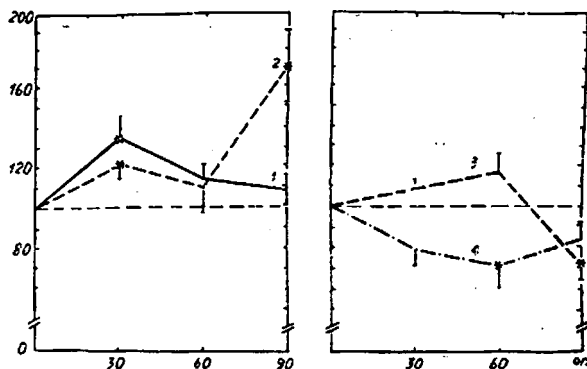


Рис. 1 Влияние гипокинезии на содержание биогенных аминов в синаптических сенсомоторной области коры. По оси абсцисс—продолжительность гипокинезии в сутках, по оси ординат—содержание в процентах от нормы, принятой за 100%. 1—НА, 2—ДА, 3—5-ОИУК, 4—5-ОТ

Первые 60 суток эксперимента характеризовались постепенным снижением содержания 5-ОТ в синаптических сенсомоторных, сопровождающимся повышением содержания его метаболита 5-ОИУК. В течение 3-го месяца гипокинезии была отмечена тенденция к нормализации уровня содержания 5-ОТ. Содержание 5-ОИУК в этот период достоверно снижалось и в конце периода гипокинезии было на 28% ниже нормы ($p < 0,01$). Подобная направленность изменений содержания биогенных аминов была обнаружена и в синаптических сенсомоторных хвостатого ядра (рис. 2). Так, наблюдаемое на 30-е сутки эксперимента повышение содержания в них НА и ДА сменялось в течение 2-го месяца гипокинезии тенденцией к его нормализации. Увеличение срока двигательной депривации до 90 суток вновь приводило к повышению содержания катехоламинов по сравнению с 60-ми сутками эксперимента. Количество НА на 90-е сутки гипокинезии практически нормализовалось, а содержание ДА было на 33% выше контроля ($p < 0,01$).

Состояние серотонинергической системы в хвостатом ядре на 30- и 60-е сутки гипокинезии практически полностью соответствовало таковому в сенсомоторной коре. В течение 3-го месяца ограничения подвижности наблюдалось возрастание как содержания 5-ОТ, так и

5-ОИУК, на 90-е сутки гипокинезии уровень содержания 5-ОТ был незначительно выше контрольного, тогда как концентрация 5-ОИУК повышалась на 56% по сравнению с нормой ($p < 0.01$).

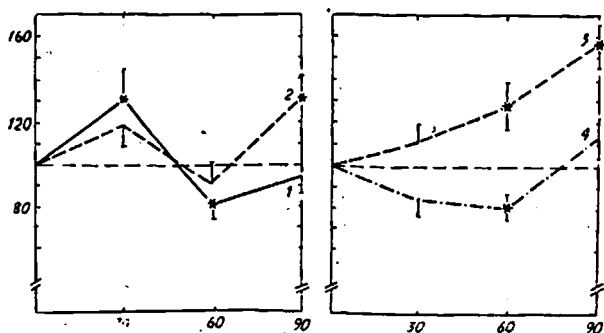


Рис. 2. Влияние гипокинезии на содержание биогенных аминов в синптосомах хвостатого ядра. Обозначения те же, что и на рис. 1

Изменения содержания биогенных аминов в течение всего периода гипокинезии находились в тесной связи с изменениями активности фермента, принимающего участие в процессах их катаболизма—МАО. Так, повышение содержания катехоламинов на 30-е сутки гипокинезии сопровождалось возрастанием активности МАО, что свидетельствует об интенсификации обмена НА и ДА в начальные сроки эксперимента. Следует отметить, что подобное увеличение содержания катехоламинов характерно для любого экстремального воздействия и отражает компенсаторно-восстановительные перестройки метаболизма нервных клеток в ответ на изменившиеся условия внешней среды [12].

Дальнейшая активация МАО обоих типов в течение 2-го месяца гипокинезии приводила к снижению содержания НА и ДА на 60-е сутки по сравнению с предыдущим сроком, что указывает на важную роль МАО в регуляции содержания биогенных аминов в нервной ткани при действии на организм экстремальных факторов. Нормализация концентрации катехоламинов на 60-е сутки гипокинезии свидетельствует об адаптации исследуемых структур мозга к этому сроку к ограничению двигательной активности.

Обращает на себя внимание тот факт, что на 60-е сутки эксперимента достоверно возросла и активность МАО типа Б. Основываясь на современных представлениях о множественности форм МАО [13, 14], можно предположить, что в экстремальных ситуациях в связи с необходимостью нормализации содержания катехоламинов МАО, в частности МАО типа Б, начинают окислять также и нетипичные субстраты, о чем имеются данные литературы [15].

Активность МАО типа А через 30 суток после возвращения животных к нормальному двигательному режиму была ещё понижена

по отношению к норме во всех исследованных субклеточных фракциях обоих образований мозга, что свидетельствует о торможении процессов окислительного дезаминирования биогенных аминов через 1 месяц после прекращения ограничения движений. В то же время изменения активности МАО типа Б имели противоположную направленность (табл. 2).

Таблица 2

Активность МАО А ($\Delta E_{250}/\text{мг белка} \cdot 10^{-2}$) и МАО Б ($\Delta E_{450}/\text{мг белка} \cdot 10^{-2}$) в субклеточных фракциях сенсомоторной коры и хвостатого ядра на 30-е сутки периода реадaptации

Структуры головного мозга	Субфракции	МАО А			МАО Б		
		контроль	реадаптация	% изменения по сравнению с контролем	контроль	реадаптация	% изменения по сравнению с контролем
Сенсомоторная область коры	С	46,9	37,8**	-19	53,9	63,8*	+24
	Д	55,1	49,6	-10	60,1	79,1**	+32
	Е	70,2	48,1**	-32	70,2	73,3	+4
Хвостатое ядро	С	59,6	48,2	-15	59,0	65,6	+11
	Д	64,1	50,5**	-21	64,9	86,2**	+33
	Е	86,0	60,1**	-30	78,2	81,4	+4

Примечание. * $p < 0,01$; ** $p < 0,005$

Через 30 суток после прекращения состояния воздействия гипокинезии содержание катехоламинов в синапсосах сенсомоторной коры было достоверно повышено по отношению к норме на 30% в случае НА и на 33% в случае ДА (рис. 3). Изменения этих показателей, однако, имели различную направленность в течение периода реадaptации—содержание НА в конце 90-суточной гипокинезии не отличавшееся от исходного, постепенно возрастало, тогда как количество ДА снижалось по сравнению с его количеством на 90-е сутки гипокинезии в сторону нормализации. Одномесичный период восстановления не приводил к заметным изменениям содержания 5-ОТ и продукта его распада 5-ОИУК в синапсосах сенсомоторной коры по сравнению с их количеством на 90-е сутки гипокинезии—оба показателя оставались ниже контрольного уровня.

В течение периода реадaptации была отмечена противоположная направленность изменений содержания НА и ДА и в синапсосах хвостатого ядра (рис. 4). Наблюдаемое в этот период повышение содержания 5-ОТ сопровождалось параллельным снижением количества 5-ОИУК в сторону его нормализации.

Возвращение животных к нормальному двигательному режиму после длительного ограничения движения в первое время является для них также стрессорным фактором [2]. Следовательно и в период восстановления подвижности животных возможны изменения со стороны метаболизма катехоламинов и активности МАО, участвующей в регуля-

ции их содержания. Но если в начальные сроки гипокинезии, когда регуляторные механизмы головного мозга были ещё в полной «рабочей готовности», активность МАО нарастала, что способствовало предотвращению негативных последствий стресс-реакции, вызванной ограничением подвижности, то в период после прекращения действия гипокинезии стресс-реакция формировалась на фоне существенного истощения адаптационных возможностей организма [2], что и обусловило специфику ответа клеток нервной ткани в течение данного периода.

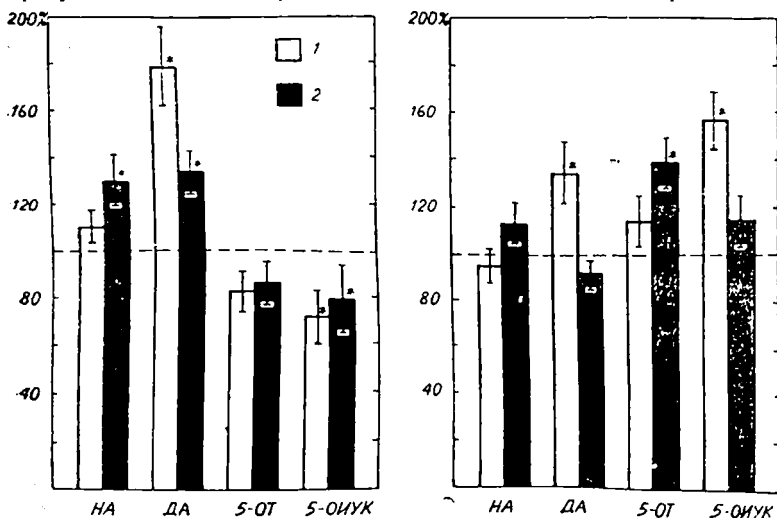


Рис. 3. Содержание биогенных аминов (в % от нормы, принятой за 100%) в синапсосах сенсомоторной области коры в период реадaptации. 1—90-суточная гипокинезия; 2—реадаптация (30-сутки после воздействия гипокинезии)

Рис. 4. Содержание биогенных аминов в синапсосах хвостатого ядра (в % от нормы, принятой за 100%) в период реадaptации. Обозначения те же, что и на рис. 3

Литературные и собственные данные убедительно свидетельствуют о том, что возвращение животных к обычному двигательному режиму приводит к постепенной ликвидации нарушения метаболических процессов, вызванных длительным ограничением подвижности. Однако период восстановления, равный одной трети времени действия гипокинезии, оказался недостаточным для полной нормализации метаболизма биогенных аминов в субклеточных структурах сенсомоторной области коры и хвостатого ядра головного мозга крыс.

Результаты настоящего исследования показали, что длительная (до 90 суток) гипокинезия приводит к существенным сдвигам содержания биогенных аминов и активности фермента их катаболизма

МАО во фракциях синапсом и митохондрий, выделенных из некоторых образований двигательной системы мозга крыс. Эти изменения имели характерные для каждого срока гипокинезии особенности и сохранялись в течение длительного времени после её прекращения.

METABOLISM OF BIOGENIC AMINES IN RAT BRAIN MOTOR SYSTEM SUBCELLULAR STRUCTURES UNDER THE PROLONGED HYPOKINESIA

PANOUSHIEVA N. N., DOVEDOVA E. L.

Brain Research Institute, Acad. Med. Sci., Moscow, USSR

The effect of prolonged hypokinesia (30, 60, 90 days) on the biogenic amine metabolism has been studied in the fractions of synaptosomes and mitochondria isolated from the rat brain sensor-motor cortex and n. caudatus. The specific changes for the each phase of the experiment have been demonstrated in the biogenic amine content (norepinephrine, dopamine, serotonin, 5-hydroxyindolacetic acid) and MAO activity. It has been shown that 30 days' period of readaptation after 90 days of hypokinesia is not enough for the normalization of the biogenic amine metabolism.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Коваленко Е. А., Попков В. А., Кондратьев Ю. Н., Маилян Э. С. Патол. физиология и эксперим. терапия, т. 14, с. 3—6, 1970.
2. Федоров И. В. Обмен веществ при гиподинамии, 252 с., М., Наука, 1982.
3. Kraus H., Raab W. Hypokinetic disease. Diseases produced by lack of exercise... Springfield, Illinois, 1961.
4. Будинцев А. Ю. Моноаминогические системы мозга, 192 с., М., Наука, 1976.
5. Baldessarini R. J. Ann. Rev. medicine, v. 23, p. 343—354, 1972.
6. Geyer M. A., Segal D. S., Mandell A. J. Physiol. Behav., v. 8, p. 653—658, 1972.
7. Бизольд Д.—В кн.: Биохимия и функция нервной системы. Материалы международного симпозиума, с. 115—122, Л., 1965.
8. De Robertis E., Pellegrino de Iraldi P. A., Rodrigues de Lores Arnais G. R., Salganicoff L. J. Neurochem., v. 9, p. 23—35, 1962.
9. Popov N., Rösler V., Thiemann C., Mathies H. Acta biol. et med. ger., v. 26, p. 239—245, 1971.
10. Горкин В. З., Вережкина А. В., Гриднева Л. Н.—В кн.: Современные методы в биохимии, т. 2, с. 155—157, М., Медицина, 1968.
11. Коган Б. М., Нечаев Н. В. Лаб. дело, т. 5, с. 301—303, 1979.
12. Тигранян Р. А., Костянцки Р. Нейрохимия, т. 1, с. 221—230, 1982.
13. Fowler C. J., Callingham B. A., Mantle T. J. Biochem. Pharmacol., v. 27, p. 97—101, 1978.
14. Garrick N. A., Murphy D. L. Biochem. Pharmacol., v. 31, p. 4061—4066, 1982.
15. Горошинская И. А., Броницкая Э. Г., Кричевская А. А., Карабухина Е. Г., Нейрохимия, т. 1, с. 282—287, 1982.

Поступила 7. I 1985