

том 3. №3. 1984

ISSN 0203-493X

НЕЙРОХИМИЯ

ՆԵՅՐՈՔԻՄԻԱ



АКАДЕМИЯ НАУК СССР
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР

НЕЙРОХИМИЯ ՆԵՅՐՈՔԻՄԻԱ

ТОМ 3, ВЫП. 3
Июль -- сентябрь

Журнал основан в 1982 году
Выходит 4 раза в год

ИЗДАТЕЛЬСТВО АН АРМЯНСКОЙ ССР
ЕРЕВАН 1984

Редакционная коллегия

А. А. ГАЛОЯН—главный редактор

Г. В. Априкян, А. В. Арутюнян (зам. главного редактора), Л. С. Арутюнян (отв. секретарь), Я. В. Белик, Н. Н. Демин (зам. главного редактора), К. Г. Карагезян, П. А. Кометиани, Е. М. Крепс, А. А. Кричевская, Р. М. Налбандян, М. Ш. Промыслов, В. И. Розенгарт, Л. Я. Тяхепылд, Г. С. Хачатрян

Редакционный совет

Н. Г. Алексидзе, С. В. Гастева, Р. Н. Глебов, Б. А. Казарян, Р. И. Кругликов, Б. К. Лишко, В. Г. Мхитарян, В. С. Оганесян, М. И. Прохорова, А. Д. Рева, Д. А. Сахаров, А. А. Симонян, Т. М. Турнаев, А. М. Утевский, Е. М. Хватова, Л. С. Черкасова, Р. Н. Этинггоф

Ст. редактор *В. С. Бегларян*
Редактор *Э. А. Хачатурово*
Тех. редактор *Л. А. Азизбекян*

Сдано в набор 6.06.1984 г. Подписано к печати 12.09.1984 г. ВФ 09904.
Бумага № 7, 70×108¹/₁₆. Высокая печать. Печ. лист. 7,25. Усл.-печ. лист. 10,15.
Учет.-изд. 7,67. Тираж 625. Заказ 620. Издат. 6149.
Адрес редакции: 375044, Ереван-44, ул. П. Севака, 5/1, т. 24-89-00, 24-89-54.
Издательство АН АрмССР, Ереван, 19, пр. Маршала Баграмяна, 24-г.
Типография Издательства Академии наук АрмССР, Ереван-19,
пр. Маршала Баграмяна, 24.

К СВЕДЕНИЮ ЧИТАТЕЛЕЙ!

Журнал «НЕЙРОХИМИЯ» печатает статьи по всем разделам биохимии нервной системы. Журнал публикует наряду с оригинальными статьями также обзоры по актуальным вопросам нейробиохимии и экспрессию информации в виде кратких сообщений и писем в редакцию. Особое внимание уделяется работам по функциональной нейробиохимии, касающимся структуры и биологической роли специфических белков, нейропептидов, нуклеиновых кислот и нуклеотидов и других соединений нервной ткани, биохимии трансмиттеров и их рецепторов, миелиногенеза, глии и нейронов, аксонального транспорта и хромаффинных гранул.

В работе журнала принимают участие ведущие нейробиохимики Советского Союза и известные зарубежные ученые.

Журнал предназначен для научных работников, занимающихся проблемами биохимии, физиологии, фармакологии, иммуногистохимии нервной системы. Он представляет также интерес для широкого круга клиницистов, работающих в области психиатрии, невропатологии и нейроэндокринологии.

Подписку на журнал «НЕЙРОХИМИЯ» можно осуществить во всех отделениях «Союзпечати» (индекс для подписки—77787), а за границей через агентство «Международная книга».

Журнал выходит 4 раза в год, цена одного номера—1 руб. 30 коп.

ВЛИЯНИЕ Des-Tyr-γ-ЭНДОРФИНА И ТЕТРАПЕПТИДАМИДА
НА БИОСИНТЕЗ ДОФАМИНА В СИНАПТОСОМАХ
МОЗГА КРЫС

ШЕМАНОВ А. Ю., КУДРИН В. С., РАЕВСКИЙ К. С.

НИИ фармакологии АМН СССР, Москва

Изучено влияние эндогенного пептида с нейролептическими свойствами Des-Tyr-γ-эндорфина (DT-γ-Э) и синтетического тетрапептидного аналога энкефалина (ТПА) с опиоидной активностью на лимитирующий этап биосинтеза дофамина (ДА)—процесс гидроксилирования тирозина в синапсосомах стриатума и прилежащего ядра перекрестка мозга крыс. В синапсосомах стриатума DT-γ-Э в концентрации 10^{-6} М вызывал достоверное увеличение отношения K_m/V реакции гидроксилирования тирозина. При этом наблюдалось угнетение скорости реакции в области низких концентраций субстрата. Опиоидный пептид ТПА вызывал аналогичные сдвиги кинетических констант лишь в концентрации 10^{-4} М. DT-γ-Э сходным образом изменял кинетику гидроксилирования тирозина в синапсосомах прилежащего ядра лишь в концентрации 10^{-4} М. ТПА в этом случае не оказывал эффекта. DT-γ-Э и ДА ингибировали тирозингидроксилазную реакцию в синапсосомах стриатума, причем DT-γ-Э только в области низких концентраций субстрата. При этом эффект ДА не изменялся под действием DT-γ-Э, а также не суммировался с эффектом данного пептида. В условиях угнетения обратного захвата ДА и деполяризации синапсосом, вызванной повышением концентрации K^+ (30 мМ), в опытах на синапсосомах стриатума и прилежащего ядра DT-γ-Э и ТПА не влияли на скорость гидроксилирования тирозина и ингибирующий эффект ДА на этот процесс.

Дофаминергические структуры стриатума и прилежащего ядра перекрестка мозга (n. accumbens septi) принимают участие в интеграции сложных психомоторных функций мозга, а, по некоторым данным, оказываются вовлеченными в патогенез психопатологических расстройств у человека [1, 2]. В связи с этим изучение возможных путей фармакологической регуляции центральной ДА-ергической передачи представляет несомненный теоретический и практический интерес; существенная роль в ее обеспечении принадлежит биосинтезу нейротрансмиттера, лимитирующим звеном которого в мозгу является ферментативное гидроксилирование тирозина, осуществляемое при участии тирозингидроксилазы (К. Ф. 1. 14. 16. 2) [3—5]. Ранее было показано [6], что эндогенный пептид с нейролептическими свойствами, лишенный опиоидной активности, DT-γ-Э способен модулировать гидроксилирование тирозина в синапсосомах стриатума [7], причем влияние DT-γ-Э на этот процесс

наблюдалось только при сравнительно высокой концентрации субстрата реакции тирозина. Известно также, что энкефалины и их опииодные аналоги увеличивают скорость биосинтеза ДА в мозгу в условиях *in vivo* [8]. Значимость данных о возможном влиянии указанных пептидов на биосинтез ДА для понимания механизмов физиологической регуляции этого процесса определяется тем, что опииодные пептиды и фрагменты γ -эндорфина обнаружены в структурах мозга, где локализованы ДА-ергические терминалы [9, 10]. Поскольку многие существенные стороны участия пептидов, обладающих опииодными и нейродептическими свойствами, в механизмах биосинтеза ДА остаются неизвестными, целью данной работы было изучение влияния DT- γ -Э и опииодного тетрапептидного аналога энкефалинов—тетрапептидамида Туг-D-Ala-Gly-Phe-NH₂ (ТПА) [11] на гидроксילирование тирозина в синапсосомах стриатума и прилежащего ядра мозга крыс.

Материалы и методы

В работе использовали крыс-самцов линии Вистар массой 200±40 г. Стриатум и прилежащие ядра мозга крыс выделяли в соответствии с методиками Glowinski, Iversen и Horn с соавт. [12, 13]. Грубую синапсосомную фракцию получали по методу Gray, Whittaker [14]. Осадок ресуспендировали в среде инкубации, и полученную суспензию (P₂) использовали для определения тирозингидроксилазной активности в синапсосомах, которая при условии сохранности последних проявляется в отсутствие экзогенного кофактора [15]. В качестве среды инкубации использовали фосфатный буфер Кребса следующего состава (в мМ): NaCl—124; KCl—5; Na₂HPO₄—20; MgCl₂—1,3; KH₂PO₄—1,2; CaCl₂—0,75; D-глюкоза—10. Перед ресуспендированием синапсосом буфер в течение 5 мин оксигенировали карбогеном. Среду инкубации с повышенным содержанием K⁺ (30 мМ) готовили путем замещения эквимольного количества NaCl на KCl. Концентрацию белка синапсосом определяли по Lowry и соавт. [16], тирозингидроксилазную активность—по методу Nagatsu и соавт. [17], используемому для синапсосом. Метод основан на изоляции меченой по тритию воды—одного из продуктов реакции гидроксילирования ³H-тирозина. Состав инкубационной смеси (200 мкл): суспензия синапсосом (P₂)—0,1—0,2 мг белка, исследуемые вещества, 3-оксисбензилгидразин (ингибитор декарбоксилазы ароматических аминокислот—1 мМ, (3,5—²H)-L-тирозин (2,8 K_a/ммоль, Inst. of isotopes, Венгрия)—0,2—6 мкМ. Инкубацию проводили в течение 15 мин при 37°, начиная с добавления ³H-тирозина. В контрольные пробы сразу после добавления тирозина вносили по 400 мкл 3,5%-ной трихлоруксусной кислоты (ТХУ), после чего их оставляли при 0°. Реакцию гидроксילирования тирозина останавливали добавлением 400 мкл 3,5%-ной ТХУ на лед. Осадок удаляли центрифугированием (5 мин, 5000 g). Аликваты супернатанта (0,5 мл) наносили на колонку со смолой Dowex 50 W×4 (H⁺-форма). Колонки дважды промывали водой (по 0,5 мл). Объединенный элюат, содержащий образовавшуюся в ходе реакции ра-

диоактивную воду, растворяли в сцинтилляционной жидкости Брэя [18]. Радиоактивность образцов определяли методом жидкостносцинтилляционной спектрометрии на счетчике «Intertechnique SL-4000». Эффективность счета составляла 25%. Накопление продукта линейно зависело от времени, если период инкубации составлял не более 15 мин, и концентрации белка синапсом в пробе (до 2 мг/мл). Изучение кинетики тирозингидроксилазной реакции проводили с обработкой данных по методу наименьших квадратов, основанному на использовании уравнения $s/v = K_m/V + 1/V \cdot s$, где s — концентрация субстрата, v — начальная скорость реакции при концентрации субстрата s . Поскольку превращение субстрата за 15 мин инкубации составляло менее 5%, измеренную скорость реакции принимали за начальную и использовали для определения кинетических констант [19]. Пептиды были синтезированы в лаборатории синтеза пептидов ВКНЦ АМН СССР и любезно предоставлены для этой работы М. И. Титовым.

Результаты и обсуждение

В настоящей работе было изучено влияние ДТ-γ-Э на кинетику протекания тирозингидроксилазной реакции в синапсоммах стриатума и прилежащего ядра. Параллельно в аналогичных условиях исследовали эффект опиоидного пептида ТПА.

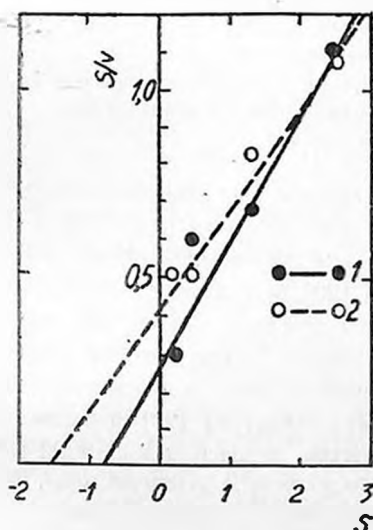


Рис. 1. Влияние Des-Tyr-γ-эндофина (10^{-6} М) на кинетику гидроксилирования тирозина в синапсоммах стриатума. 1 — контроль, 2 — Des-Tyr-γ-эндофин. По оси абсцисс — концентрация тирозина (мкМ), по оси ординат — величина s/v ($\text{мг} \cdot \text{мг белка} \cdot \text{мл}^{-1}$).

В концентрации 10^{-6} М ДТ-γ-Э уменьшал скорость гидроксилирования тирозина в синапсоммах стриатума в области низких концентраций субстрата реакции. Это проявлялось в достоверном увеличении на 66% ($p < 0.05$) отношения K_m/V (рис. 1). Существенного увеличения величины V в отличие от опытов с более продолжительной (30 мин) инкубацией не наблюдали [7]. Более высокие концентрации ДТ-γ-Э оказались менее эффективными. Опиоидный пептид ТПА в тех же условиях в синапсоммах стриатума вызывал аналогичные изменения кинетики

тирозингидроксилазной реакции (увеличение отношения K_m/V на 59%) с тем же уровнем достоверности ($p < 0,05$) при более высокой концентрации 10^{-4} М (рис. 2). В синапсосамах прилежащего ядра ДТ-γ-Э, вызывая сходные изменения в протекании реакции (увеличение отношения K_m/V реакции на 68%), был активен только при концентрации 10^{-4} М (рис. 3). ТПА не изменял гидроксилирование тирозина в синапсосамах из этой структуры мозга.

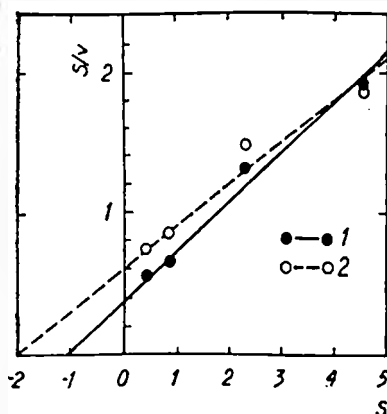


Рис. 2.

Рис. 2. Влияние Тир-Д-Ала-Гли-Фен- NH_2 (10^{-4} М) на кинетику ферментативного гидроксилирования тирозина в синапсосах стриатума.

1—контроль, 2—Тир-Д-Ала-Гли-Фен- NH_2 .

Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

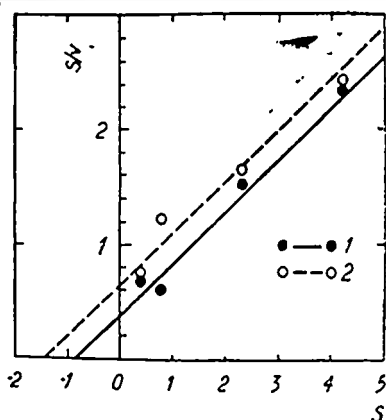


Рис. 3.

Рис. 3. Влияние Des-Тир-γ-эндорфина (10^{-4} М) на кинетику ферментативного гидроксилирования тирозина в синапсосамах прилежащего ядра.

Обозначения те же, что и на рис. 1.

В регуляции биосинтеза ДА существенная роль принадлежит пресинаптическим механизмам, к числу которых, в частности, относятся обратное ингибирование тирозингидроксилазы ДА, опосредованное захватом медиатора нервными окончаниями [20], и сложная регуляторная система, связанная с функционированием пресинаптических ауторецепторов ДА [21, 22]. Нейролептики блокируют опосредованное пресинаптическими рецепторами ДА угнетающее влияние агонистов на гидроксилирование тирозина в синапсосах стриатума [23] и прилежащего ядра [24], поэтому представляло интерес изучение влияния ДТ-γ-Э на регуляцию тирозингидроксилазы, вовлекающей ауторецепторы ДА. Модулирующее влияние ДТ-γ-Э на этот процесс могло бы проявляться в непрямом антагонизме с эффектом ДА, поскольку известно, что сам ДТ-γ-Э и его основной метаболит не изменяют связывание лигандов с рецепторами ДА [25, 26].

Изучение совместного действия ДТ-γ-Э и ДА на гидроксилирование тирозина в синапсосах стриатума показало, что ДА вызывал одинаковый ингибирующий эффект как в присутствии, так и в отсутствие ДТ-γ-Э (табл. 1). Однако, как видно из табл. 1, эффект самого ДТ-γ-Э

при низких концентрациях тирозина (0,8 мкМ), выразившийся в уменьшении скорости реакции на 38% ($p < 0,01$), в присутствии ДА не проявлялся, то есть не наблюдалось аддитивности ингибирующего действия DT-γ-Э и ДА. Эти данные интересно сопоставить с ранее обнаруженным фактом изменения кинетических свойств тирозингидроксилазы после предварительной инкубации синапсом с ДА в условиях, исключавших прямое взаимодействие медиатора с ферментом [21]. В последнем случае были отмечены сложные изменения кинетики тирозингидроксилазной реакции, проявлявшиеся, в частности, в увеличении скорости гидроксилирования в области низких концентраций субстрата.

Таблица 1

Гидроксилирование тирозина в синапсомах стриатума: влияние Des-Тур-γ-эндорфина на ингибирующий эффект дофамина

Вариант опыта	Скорость гидроксилирования тирозина в % по отношению к контролю	
	0,8 мкМ ^3H -тирозина	4,4 мкМ ^3H -тирозина
Контроль	100,0 ± 26,9 ^a (5)	100,0 ± 12,7 ^b (8)
DT-γ-Э, 1 мкМ	61,7 ± 21,1* (7)	89,8 ± 15,9 (8)
Дофамин, 2 мкМ	45,2 ± 25,3* (5)	44,3 ± 9,2** (8)
DT-γ-Э + дофамин	45,8 ± 25,5* (8)	40,0 ± 20,8** (8)

Примечание. 100% соответствует скорости гидроксилирования.

^a—1,06 пмоль/мин/мг белка; ^b—3,00 пмоль/мин/мг белка. В скобках количество экспериментов, * $p < 0,01$; ** $p < 0,002$ (по критерию Стьюдента).

DT-γ-Э и ТПА не изменяли влияние ДА на скорость тирозингидроксилазной реакции в присутствии деполяризующей концентрации K^+ (30 мМ) и кокаина (40 мкМ), использованного в качестве блокатора обратного захвата ДА [27] как в опытах на синапсомах стриатума (табл. 2), так и прилежащего ядра (табл. 3). В условиях блокады обратного захвата медиатора и опустошения его внутрисинапсомных запасов прямое влияние ДА на фермент уменьшено, что облегчает выявление эффекта ДА, опосредуемого пресинаптическими ауторецепторами. Как показали наши опыты, DT-γ-Э и ТПА в данных условиях не оказывали влияния на скорость гидроксилирования тирозина и не изменяли действия ДА на этот процесс. Отсутствие эффекта самих пептидов в этих условиях может объясняться тем, что деполяризация и кокаин способны изменять регуляторные свойства тирозингидроксилазы [28, 29]. Таким образом, приведенные данные свидетельствуют, что действие пептидов DT-γ-Э и ТПА на биосинтез ДА в синапсомах в отличие от традиционных нейрорептиков не связано с влиянием на пресинаптические ауторецепторы ДА.

Проведенные эксперименты указывают на возможность прямого пресинаптического модулирующего действия DT-γ-Э на гидроксилирование тирозина, участвующего в обеспечении ДА-ергической передачи

Таблица 2

Гидроксилирование тирозина в синапсосах стриатума: отсутствие влияния пептидов на ингибирующий эффект дофамина в условиях калцевой деполяризации и угнетения обратного захвата дофамина

Вариант опыта	Скорость гидроксилирования тирозина в % по отношению к контролю без добавления дофамина	
	без дофамина	дофамина, 3 мкМ
Контроль	100,0±18,0 (8)	72,2±14,4** (4)
DT-γ-Э, 1 мкМ	96,0±20,5 (6)	75,9±12,2* (7)
DT-γ-Э, 100 мкМ	92,1±20,1 (8)	71,7±8,4*** (6)
ТПА, 1 мкМ	90,3±33,7 (8)	75,1±11,5** (6)
ТПА, 100 мкМ	96,1±17,1 (8)	74,1±7,6** (7)

Примечание. Концентрация белка синапсом в пробе — 0,5–1 мг/мл. Концентрация 3H-тирозина—1,7 мкМ. 100% соответствует скорости гидроксилирования 1,23 нмоль/мин/мг белка. В скобках—число экспериментов, * $p < 0,05$; ** $p < 0,02$; *** $p < 0,01$ по критерию Стьюдента.

Таблица 3

Гидроксилирование тирозина в синапсосах прилежащего ядра: отсутствие влияния пептидов на ингибирующий эффект дофамина в условиях калцевой деполяризации и блокады обратного захвата дофамина

Вариант опыта	Скорость гидроксилирования тирозина в % по отношению к контролю без добавления дофамина	
	без дофамина	дофамина, 3 мкМ
Контроль	100,0±19,4 (8)	69,0±14,0** (6)
DT-γ-Э, 1 мкМ	85,9±18,1 (8)	68,5±32,7* (4)
DT-γ-Э, 100 мкМ	86,9±18,4 (8)	68,0±16,6** (8)
ТПА, 1 мкМ	94,9±23,4 (8)	70,4±5,3*** (8)
ТПА, 100 мкМ	90,1±10,8 (7)	71,2±16,4** (6)

Примечание. Концентрация белка синапсом в пробе — 0,5–1 мг/мл. Концентрация 3H-тирозина—1,8 мкМ. 100% соответствует скорости гидроксилирования 1,181 нмоль/мин/мг белка. В скобках—число экспериментов, * $p < 0,08$ (по критерию Вилкоксона), ** $p < 0,02$, *** $p < 0,01$ (по критерию Стьюдента).

в стриатуме и прилежащем ядре. Развитие каталептического эффекта DT-γ-Э, описанное ранее [6, 7], может быть следствием частичной блокады ДА-ергической передачи в стриатуме, как и в случае применения традиционных нейролептиков, но при участии других механизмов. Основой для этого эффекта является, по-видимому, главным образом угнетение высвобождения ДА из интро-стриатных пресинаптических окончаний, наблюдавшееся при действии DT-γ-Э [30]. Подавление ДА-ергической передачи могло бы, по всей вероятности, усиливаться за счет ингибирования биосинтеза ДА, обусловленного обнаруженным в наших опытах изменением кинетики тирозингидроксилазной реакции. Со-

поставление полученных нейрохимических данных с экстрапирамидными эффектами пептида обнаруживает ряд особенностей. Так, ингибирующее влияние пептида на лимитирующий этап биосинтеза ДА имеет место лишь при низких концентрациях ДТ-γ-Э и исчезает при его высоких концентрациях. ДТ-γ-Э при определенных условиях обладает также активирующим действием на биосинтез медиатора [7]. Обнаруженное в условиях этих опытов отчетливое активирующее действие ДТ-γ-Э на лимитирующий этап биосинтеза ДА, не выявившееся при изучении кинетики гидроксилирования тирозина, может быть объяснено тем, что для проявления этого эффекта необходимо более длительное время воздействия. При этом могут накапливаться активные фрагменты ДТ-γ-Э, образующиеся в процессе инкубации и обладающие иным спектром активности [26]. Все это, по нашему мнению, может служить объяснением слабой выраженности экстрапирамидных эффектов пептида и наличия их лишь в узком интервале доз [7].

Пресинаптическое влияние ДТ-γ-Э на ключевой этап биосинтеза ДА наблюдали и в опытах на синапсосах прилежащего ядра, где в отличие от синапсосом стриатума для достижения эффекта требуется более высокая концентрация пептида. При этом в его действии, вероятно, отсутствует активирующий компонент. Известно, что уменьшение ДА-ергической передачи в прилежащем ядре, как и в стриатуме, обусловлено угнетением под действием ДТ-γ-Э высвобождения медиатора [30]. Полученные данные позволяют предположить, что в этот механизм может вносить свой вклад ингибирующий эффект пептида на гидроксилирование тирозина в синапсосах из этой структуры. Принимая во внимание важную роль мезолимбической и нигро-стриатной систем мозга в развитии антипсихотического эффекта нейролептиков, можно полагать, что именно блокада ДА-ергической передачи в стриатуме и прилежащем ядре, обусловленная пресинаптическим действием ДТ-γ-Э, является основой терапевтического эффекта этого пептида при лечении шизофрении [31].

В наших опытах на синапсосах ТПА не вызывал эффекта ускорения биосинтеза ДА, характерного для действия опиоидов в условиях *in vivo* [8]. Причиной этого, возможно, является нарушение целостности вовлеченных в этот эффект механизмов в процессе выделения синапсом. В высоких концентрациях ТПА угнетал гидроксилирование тирозина в синапсосах стриатума, не вызывая существенных изменений в синапсосах прилежащего ядра.

Таким образом, в результате проведенных исследований удалось продемонстрировать возможность прямого пресинаптического модулирующего эффекта ДТ-γ-Э на процесс гидроксилирования тирозина, участвующего в обеспечении ДА-ергической передачи в двух функционально важных системах мозга—нигро-стриатной и мезолимбической. При этом обнаружены существенные отличия в механизме действия ДТ-γ-Э по сравнению с известными нейролептиками, с одной стороны, и ТПА, с другой.

EFFECT OF DES-TYROSINE- γ -ENDORPHIN AND TETRAPEPTIDE AMIDE ON DOPAMINE BIOSYNTHESIS IN RAT BRAIN SYNAPTOSOMES

SHEMANOV A. Yu., KUDRIN V. S., RAYEVSKY K. S.

Institute of Pharmacology, USSR Academy of Medical Sciences,
Moscow

The effect of an endogenous peptide with neuroleptic-like properties Des-Tyr- γ -Endorphin (DTGE) and synthetic opioid tetrapeptide amide (TPA) on the tyrosine hydroxylation has been studied in Wistar rat brain striatum and n. accumbens fraction P_2 synaptosomes. A 10^{-6} M DTGE causes a significant increase in K_m/V ratio for tyrosine hydroxylation in striatal synaptosomes. The decrease of reaction rate was observed at low tyrosine concentrations. Higher DTGE concentration appeared to be less effective. Only 10^{-4} M TPA produced similar alterations in kinetic constants. A 10^{-4} M DTGE changed the tyrosine hydroxylation kinetics in n. accumbens' synaptosomes in the same manner. In this case TPA failed to exert any effect. Both DTGE and DA, the former at low substrate concentration, inhibited the tyrosine hydroxylation in striatal synaptosomes. No alterations of the inhibitory effect of DA on tyrosine hydroxylation was observed in the presence of DTGE; at the same time there was no summation of the inhibitory effects of DTGE and DA. In experiments with 30 mM potassium-induced depolarization of synaptosomes and blockade of DA uptake both DTGE and DA failed to alter the tyrosine hydroxylation velocity and the inhibitory effect of DA on this process in striatum and n. accumbens' synaptosomes.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арушанян Э. Б.—В кн.: Фармакологическое и физиологическое изучение функций хвостатого ядра, с. 7—28, Чита, 1981.
2. Олзи F., Cross A. J., Cross T. J., Longder A., Foulter M., Riley G. J. *Lancet* 2, 223—226, 1978.
3. Расеский К. С., Минеева М. Ф., Кудрин В. С.—В кн.: Катехоламинергические нейроны, с. 232—245, М., Наука, 1979.
4. Минеева М. Ф.—В кн.: Нейрохимические основы психотропного эффекта, с. 53—65, М., НИИФ АМН СССР, 1982.
5. McMillen B. A., German D. C., Shore P. A. *Biochem. Pharmacol.*, 29, 3015—3050, 1980.
6. De Wied D., Kovacs G. L., Bohus B., Van Ree J. M., Greven H. M. *Eur. J. Pharmacol.*, 49, 427—436, 1978.
7. Раевский К. С., Шеманов А. Ю., Кудрин В. С. *Фармакология и токсикология*, 5, 5—8, 1982.
8. Biggio G., Casu M., Corda M. G., Di Bello C., Gessa G. L. *Science*, 200, 552—554, 1978.
9. Adler M. *Life Sci.*, 26, 497—510, 1980.
10. Verhoef J., Wiegant V. M., De Wied D. *Brain Res.*, 213, 454—460, 1982

11. Закусов В. В., Булаев В. М., Чиченков О. Н., Коробов Н. В. Бюл. эксперим. биол. и мед., 89, 2, 171—173, 1981.
12. Glowinski J., Iversen L. L. J. Neurochem., 13, 655—669, 1966.
13. Hearn A. S., Cuellar A. C., Miller R. J. J. Neurochem., 22, 265—270, 1974.
14. Gray E. G., Whittaker V. P. J. Anatomy, 96, 79—87, 1962.
15. Kuczenski R., Segal D. C. J. Neurochem., 22, 1039—1044, 1974.
16. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
17. Negutsu T., Levitt M., Udenfriend S. Analyt. Biochem., 9, 122—126, 1964.
18. Bray G. A. Analyt. Biochem., 1, 279—285, 1960.
19. Корнш-Бойден Э. Основы ферментативной кинетики. М., Мир, 1979.
20. Cerrito F., Raiteri M. Eur. J. Pharmacol., 68, 465—470, 1980.
21. Минеева М. Ф., Тюмлер Д., Кузнецова Е. А., Васильев А. Е., Развский К. С. Докл. АН СССР, 258, 2, 501—504, 1981.
22. Серра Дж., Арсиглас А., Джесса Дж.—В кн.: Нейрохимические основы психотропного эффекта, с. 39—45, М., НИИФ АМН СССР, 1982.
23. Christiansen J., Squires R. F. J. Pharm. Pharmacol., 26, 742—743, 1974.
24. Hetey L., Kudrin V. S., Schemanov A. J., Rayevsky K. S., Oelssner W.—In: Kurzeferate (Vortrage und Poster) der 4. Jahrestagung der Gesellschaften für experimentelle Medizin und Neurowissenschaften der DDR, s. 22, Dresden, 1982.
25. Van Ree J. M., Witter A., Leysen J. E. Eur. J. Pharmacol., 52, 411—413, 1978.
26. Schoemaker H., Davis Th., Pedigo N. W., Chen A., Berens E. S., Ragan P., Ling N. C., Yamamura H. I. Eur. J. Pharmacol., 81, 459—468, 1982.
27. De Langen C. D. J., Mulder A. H. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 308, 31—39, 1979.
28. Закусов В. В., Минеева-Вялых М. Ф. Бюл. эксперим. биол. и мед., 9, 1071—1074, 1976.
29. Минеева-Вялых М. Ф., Луценко В. К., Кудрин В. С., Сахарова О. П. Бюл. эксперим. биол. и мед., 85, 5, 543—545, 1977.
30. Schoemaker H., Nickolsen V. J. Life Sci., 27, 1371—1376, 1980.
31. Verhoeven W. M. A., Van Praag H. M., Van Ree J. M., De Wied D. Arch. gen. Psychiatry, 36, 294—298, 1979.

Поступила 19. V 1983

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР» ПРЕДЛАГАЕТ:

М О З Г

Сборник статей
Перевод с английского

1984, 20 л.
Цена 1 р. 70 к.

Специальный выпуск журнала «Scientific American», в котором приняли участие такие известные ученые, как Ф. Крик, Д. Хьюбел, Т. Визель и другие.

Содержание. Как работает мозг. Нейрон. Малые системы нейронов. Организация мозга. Развитие мозга. Химия мозга. Центральные механизмы зрения. Механизмы головного мозга, управляющие движением. Специализация человеческого мозга. Заболевания человеческого мозга. Мысли о мозге.

Книга предназначена для биологов всех специальностей, врачей, химиков, физиков, кибернетиков, а также студентов и аспирантов.



УДК 612.822.1 : 577.175.823; 615.212.7 : 547.95

ПРОЛОНГИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ТЕТРАПЕПТИДАМИДА НА ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА БЕЛКОВ И МЕДИАТОРОВ В ОТДЕЛЬНЫХ МИКРОСТРУКТУРАХ МОЗГА

ГЕРШТЕИН Л. М., ДОВЕДОВА Е. Л., УЗБЕКОВ М. Г., ГОЛНКОВА Т. Л.,
СЕРГУТИНА А. В., АШМАРИН И. П.

Институт мозга ВНИЦЗ АМН СССР, Москва

По прошествии длительного периода в 3—5 суток после введения аналога энкефалина $\text{Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH}_2$ выявлены существенные изменения систем синтеза и деградации моноаминов, АХЭ, а также обмена белков в структурах двигательной системы мозга кроликов.

Вызванное тетрапептидамом длительное изменение двигательных функций может быть обусловлено специфической реакцией со стороны корково-подкорковых структур двигательной системы. При этом наблюдаются изменения как со стороны холин- и моноаминергических систем, так и обмена белков и активности некоторых протеаз.

Разносторонние исследования опиоидных пептидов показали, что они во многом определяют и регулируют эмоциональное поведение, болевую чувствительность и связаны с механизмами памяти. Предполагается их участие в патогенезе ряда нервно-психических заболеваний. У экспериментальных животных введение опиоидных пептидов вызывает наряду с анальгезией подавление общей подвижности, асимметрию конечностей и даже кататоническое состояние, которое, по мнению Bloom [1], напоминает состояние кататонической шизофрении.

Простейшие природные опиоидные пептиды весьма нестабильны в организме. Поэтому в эксперименте предпочтительно использование относительно устойчивых синтетических аналогов энкефалинов, одним из которых является синтетический тетрапептидамид $\text{Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH}_2$ (ТПА). Кроме быстро возникающего и длящегося до 60 мин анальгетического действия, был выявлен удивительно длительный—в течение недель—тормозный эффект ТПА на двигательную активность животных [2—6].

Если судить по аналогии с другими опиоидами, то продолжительность анальгезии коррелирует с периодом их полураспада в организме. Такие опиоидные пептиды, как эндорфины, вызывающие наиболее длительную (2 ч) анальгезию, имеют период полураспада порядка нескольких часов. Поэтому уже через сутки средние концентрации их в орга-

лизме должны быть в тысячи раз меньше исходных. Сохранение физиологических эффектов более чем на 3—5 суток предполагает либо связывание и длительное сохранение пептида в каких-то структурах, либо возникновение вторичных длительных патологических процессов. Это обуславливает необходимость углубленного изучения биохимических изменений в более длительные сроки после введения пептида. В задачу данного исследования входило изучение действия ТПА на обмен некоторых белков и нейромедиаторов двигательной системы мозга в течение длительного периода, (3—5 суток) после введения пептида.

Материалы и методы

Кроликам вводили подкожно ТПА, синтезированный в лаборатории синтеза белка ВКНЦ АМН СССР, из расчета 500 мкг/кг массы животного (пептид разводили в 1 мл физиологического раствора). Через 3—5 суток после инъекции ТПА животных забивали, так как по физиоло-

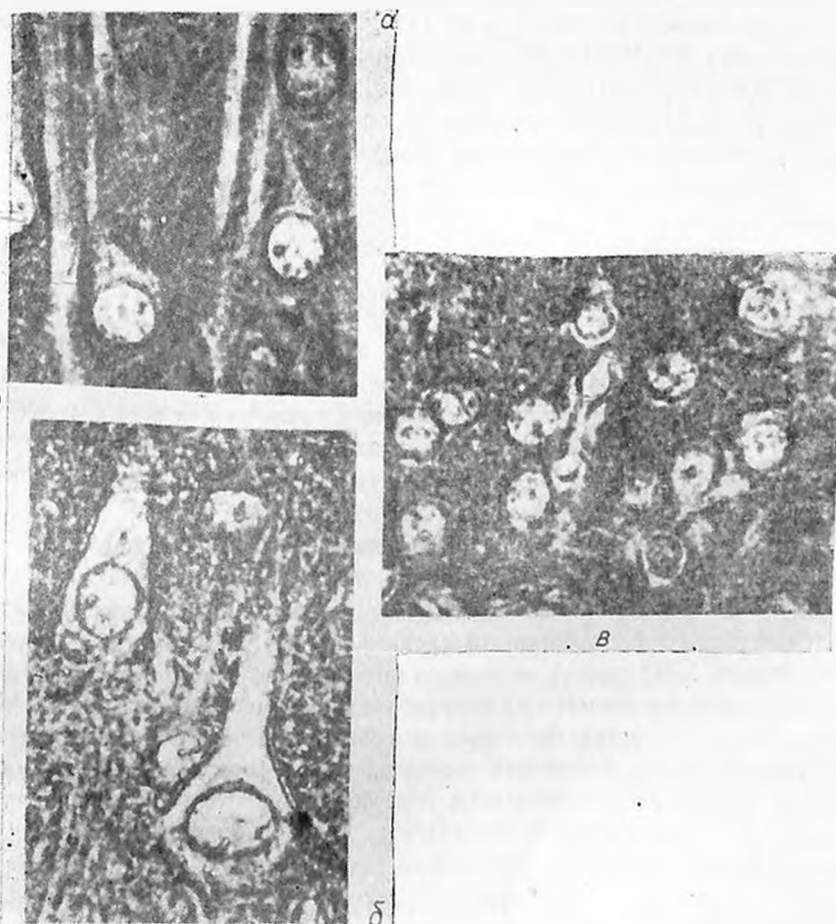


Рис. 1. Микрофото нейронов III (а) и V (б) слоев сенсомоторной области коры больших полушарий и хвостатого ядра (в) мозга крысы. Увеличение об. 40.

гическим данным в это время еще отмечаются расстройтва со стороны двигательных функций, а анальгетический эффект уже не проявляется. Были исследованы сенсомоторная область коры больших полушарий и хвостатое ядро (рис. 1). В субфракциях синаптических мембран (В), синапсом (С, D) и митохондрий (Е), выделяемых в градиенте плотности сахарозы (0,8—1,4 М), спектрофотометрически определяли активность АХЭ [10] и МАО типа А (субстрат серотонин) [11] и типа Б (субстрат—*n*-нитрофенилэтиламин) [12]. Во фракции синапсом определяли спектрофлуориметрически активность триптофангидроксилазы и содержание серотонина [13]. Результаты определения выражали в процентах У. А. ферментов по отношению к контролю, принятому за 100%. Количественными цитохимическими методами определяли активность аминопептидазы (АМП) [14], кислой фосфатазы (КФ) [15], глутаматдегидрогеназы (ГДГ) [16], АХЭ [17], МАО [18] на люминесцентном микроскопе ЛЮМАМ в усл. ед. опт. пл. при длине волны для АМП—550, КФ—567, ГДГ—589, АХЭ—486, МАО—590 нм. Интерферометрически по сухой массе вещества определяли белок (содержание и концентрацию) с одновременным определением размеров нейронов [17].

Экспериментальные данные обработаны статистически по *t*-критерию Стьюдента.

Результаты исследования

Под влиянием ТПА через 3-е суток при послойном цитохимическом определении АХЭ (рис. 2) в слоях III и V сенсомоторной коры уровень активности фермента достоверно снижен, в то время как в головке хвостатого ядра значительно повышен. Противоположно направленные изменения имеют место в уровне активности МАО: она возрастает в обоих слоях коры и снижается в головке хвостатого ядра.

Исследование этих же ферментов биохимически в субфракциях показало в общем сходную направленность изменений. При этом, однако, выявлены особенности, относящиеся не только к исследованным структурам, но и к субстратной специфичности. В сенсомоторной коре активность МАО типа А достоверно повышена во всех субфракциях, а МАО типа Б практически не изменяется. Достоверное же снижение активности АХЭ происходит только в субфракции тяжелых синапсом. В хвостатом ядре активность исследованных форм МАО изменяется достоверно, но разнонаправленно. Активность АХЭ уменьшается за счет изменений в синапсомах, выделяемых, в отличие от цитохимических определений, из всего хвостатого ядра (головка, тело) (рис. 3). Фермент синтеза серотонина—триптофангидроксилаза—резко активируется в коре, но содержание серотонина увеличивается недостоверно (рис. 4), вероятно, потому, что при этом резко возрастает и активность МАО типа А (рис. 3), то есть активируются одновременно системы синтеза и распада этого медиатора (рис. 3.4).

В хвостатом ядре уровень активности исследуемых ферментов изменяется в противоположном направлении. Триптофангидроксилаза инги-

бируется, а МАО типа А активируется, что вызывает достоверное уменьшение содержания серотонина (рис. 3, 4).

При исследовании ряда показателей, характеризующих обмен белков, было обнаружено, что под влиянием ТПА в слоях III и V сенсомоторной коры наблюдается достоверное повышение активности АМП и снижение ГДГ, тогда как уровень активности КФ в слое III не изменяется, а в слое V достоверно повышается. В хвостатом ядре уровень ак-

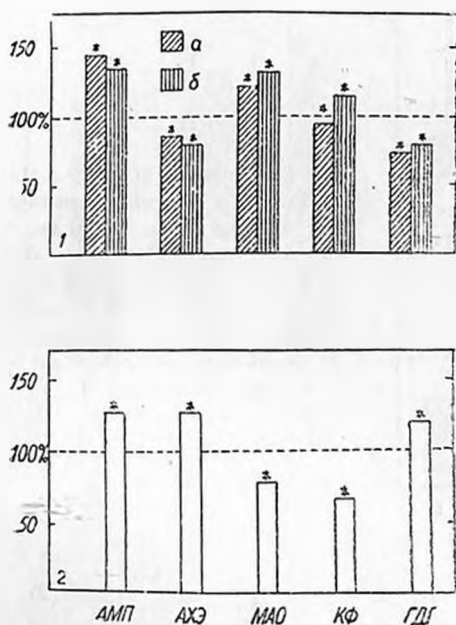


Рис. 2. Изменение активности аминокотидиназы (АМП), АХЭ, МАО, кислой фосфатазы (КФ) и глутаматдегидрогеназы (ГДГ) в слоях III (а) и V (б) сенсомоторной коры (1) и хвостатого ядра (2) под влиянием ТПА (в % к контролю);

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

тивности АМП повышается так же, как и в коре, тогда как изменения ГДГ и КФ имеют обратную направленность по сравнению с корой: активность ГДГ повышена, а КФ снижена (рис. 2). Наблюдаются и послойные изменения содержания структурированных белков, определяемых в цитоплазме и ядрах нейронов сенсомоторной области коры. Оказалось (рис. 5), что содержание белка снижается на 15% в цитоплазме нейронов слоя V, а в слое III каких-либо изменений не наблюдается. При этом существенно уменьшаются и размеры цитоплазмы: в слое III— на 17, а в слое V—на 19,5%. В процесс вовлекается и ядро (рис. 6), однако имеются определенные отличия в его реакции по сравнению с цитоплазмой. В слое III содержание белка в ядрах нейронов возрастало на 15,8, тогда как в цитоплазме этих нейронов оно снижалось достоверно на 15%. Размеры ядер этих нейронов в слое III не изменялись, а в слое V уменьшались на 11,5% (рис. 6).

Обсуждение результатов

Анализ полученных экспериментальных данных показывает, что ТПА—один из простейших аналогов опиоидных пептидов—даже по истечении 3—5 суток после однократного введения в дозе 500 мкг/кг

массы оказывает выраженное влияние на обмен нейромедиаторов и пептидов. При этом проявляется определенная специфика его действия на клеточном и субклеточном уровнях. Так, в большей мере по изученным

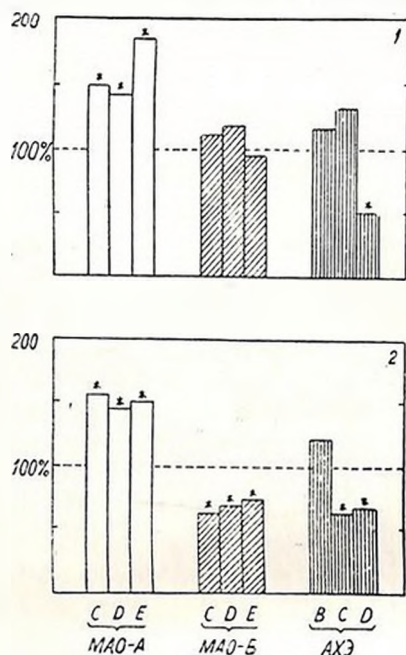


Рис. 3. Изменение активности MAO и АХЭ в субклеточных фракциях сенсомоторной коры (1) и хвостатого ядра (2) под действием ТПА. В, С, D, E—соответственно субфракции синаптических мембран легких, тяжелых синапсом, свободных митохондрий нейронов. *обозначает то же, что и на рис. 2.

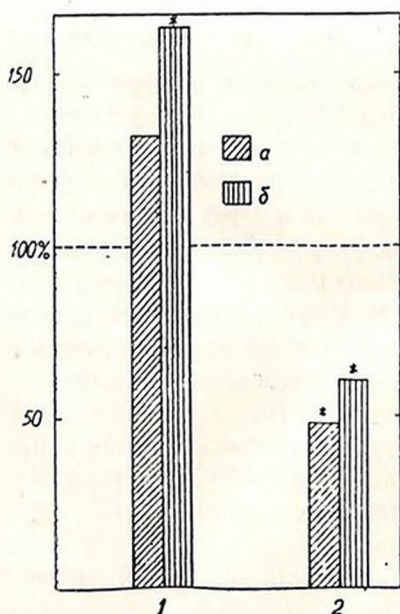


Рис. 4. Изменения содержания серотонина (а) и активности триптофан-5-гидроксилазы (б) в синапсоммах сенсомоторной коры (1) и хвостатого ядра (2) под влиянием ТПА (в % к контролю). *обозначает то же, что и на рис. 2.

показателям на действие ТПА реагируют нейроны, выполняющие интегративно-пусковые функции по сравнению с ассоциативными. В разной степени реагируют также субклеточные фракции (В, С, D, E). Обнаруженные изменения определяются и субстратной специфичностью

МАО типа А, а не Б. Таким образом, выявлены сложные взаимоотношения в реакции отдельных типов нейронов и их субклеточных компонентов на действие ТПА.

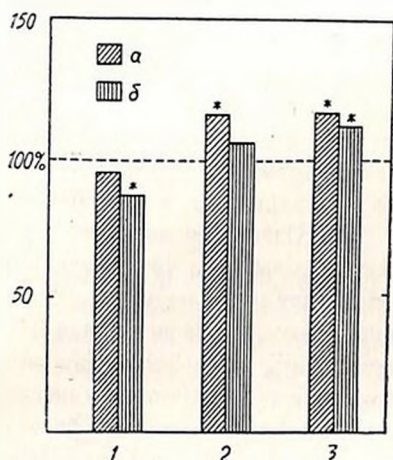


Рис. 5. Изменение размеров нейронов (1), содержания (2) и концентрации белка (3) в слоях III (а) и V (б) сенсомоторной коры под действием ТПА (в % к контролю). *обозначает то же, что и на рис. 2.

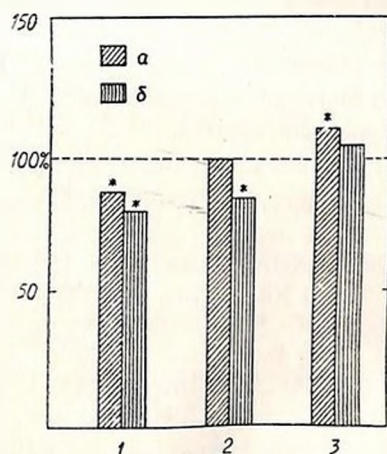


Рис. 6. Изменение размеров ядер (1), содержания (2) и концентрации (3) белка в ядрах нейронов слоев III (а) и V (б) сенсомоторной коры под действием ТПА (в % к контролю). *обозначает то же, что и на рис. 2.

Известно, что морфин, Мef-энкефалин и его синтетические аналоги стимулируют высвобождение серотонина из срезов мозга [20]. Такой же эффект получен на синапсосомах [21], из которых под действием морфина высвобождался серотонин. При этом тормозилось его связывание с серотонинсвязывающим белком растворимой фракции синапсосом. Можно предположить, что высвобождение серотонина из мест хранения повышает его доступность для метаболического действия МАО.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ТПА оказывает влияние не только на обмен нейромедиаторов, но и определенным образом затрагивает и обмен некоторых ферментов и белков, влияя на активность АМП, содержание и концентрацию структурированных и мембранных белков цитоплазмы и ядер. Последнее, вероятно, и определяет установленное изменение размеров отдельных компонентов нейро-

на. С нашими результатами согласуются данные Кругликова и соавт. [22] о том, что под влиянием Met-энкефалина усиливается включение ^{14}C -лейцина в нерастворимые белки глиноказпа и базальных ганглиев.

На основании полученных данных можно сделать общее заключение, что вызванное ТПА длительное изменение двигательных функций определяется специфической реакцией со стороны корково-подкорковых структур двигательной системы; при этом наблюдается изменение как со стороны холин- и моноаминергических систем, так и обмена белков и активности некоторых протеаз.

Особого обсуждения заслуживает вопрос о сроках после введения ТПА, при которых регистрируются столь выраженные и многообразные биохимические эффекты. В нашем распоряжении нет конкретных данных о метаболической стабильности ТПА. Однако по аналогии с другими опиидными пептидами и их производными, а также принимая во внимание сроки появления и исчезновения наиболее изученного эффекта (противоболевое действие) опиинов, характерного и для ТПА, можно с большей вероятностью предположить, что к 3-м суткам после введения общее содержание ТПА в организме будет ничтожным по сравнению с исходным. Следовательно, наблюдаемые на 3-и сутки физиологические и биохимические явления можно истолковать либо как следствие особо длительного сохранения ТПА в каких-то определенных структурах, либо как результат включения сложных механизмов последствия («запоминание воздействия») ТПА. Более вероятным представляется второе объяснение, однако для его утверждения необходимы дальнейшие исследования.

Выражаем искреннюю благодарность доктору хим. наук М. И. Титову за предоставление препарата ТПА.

PROLONGED ACTION OF TETRAPEPTIDE AMIDE ON PROTEIN AND NEUROTRANSMITTER METABOLISM IN DIFFERENT BRAIN ULTRASTRUCTURES

GERSTEIN L. M., DOVEDOVA E. L., UZBEKOV M. G., GOLIKOVA T. L.,
SERGUTINA A. V., ASCIMARIN I. P.

Brain Research Institute, All-Union Research Center of Mental
Health, USSR Academy of Medical Sciences, Moscow

Essential changes in the metabolism of neurotransmitters and proteins have been detected in rabbit brain motor cortex and nucleus caudatus 3—5 days after administration of a tetrapeptide amide Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH₂ (TPA), the analogue of enkephalins (500 mcg/kg animal b.w.). It is possible to conclude that TPA-induced long-lasting changes in the motor functions are the result of specific reaction of the cortical and subcortical structures of the motor system. They are followed by the changes both in the state of the cholinergic and monoaminergic system and in the metabolism of proteins.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Bloom F. Science, 194, 630—632, 1976.
2. Анохина В. В. Канд. дис. Синтез и исследование свойств энкефалинов и их структурных аналогов. Л., 1981.
3. Brase D. A. Adv. Biochem. Psychopharmacol., 20, 409—428, 1979.
4. Kastin A. J., Olson R. D., Schally A. V., Coy D. H. Life Sci., 25, 401—414, 1979.
5. Katz R. J., Gelhard J. Behav. Biol., 24, 338—348, 1978.
6. Ведерникова Н. Н., Мейский А. Н. Успехи соврем. биол., 91, 3, 380—392, 1981.
7. Fujino M., Shinagawa S., Kawai K., Yskii H. Naturwissenschaften, 66, 625—626, 1979.
8. Renaud L. P., Blume H. W., Pittman O. J.—In: Biol. cell. process neurosecret. hypothalam. Colloq., Bordeaux, 1977, p. 669—680. Paris, 1978.
9. Узбеков М. Г. Бюл. эксперим. биол. и мед., 95, 2, 38—40, 1983.
1. Hestrin S. J. J. Biol. Chem., 180, 249—261, 1949.
1. Popov V., Roseler C., Thiemann H., Matthies H. Acta biol. et med. ger., 26, 239—245, 1971.
2. Горкиа В. З., Веревкина Н. В., Гриднева Л. Н., Жердева Л. В., Кляшторин Л. Б., Кривченко Ф. С., Қожиссарова Н. В., Леонтьева Г. А., Романова Л. А., Северина Н. С., Фейгина С. М.—В кн.: Современные методы в биохимии, с. 155—161, М., 1967.
3. Узбеков М. Г. Онтогенез, 12, 1, 58—65, 1981.
4. Герштейн Л. М. Цитология, 7, 6, 769—773, 1965.
5. Лунна Х.—В кн.: Основы гистохимии, с. 223—224, М., Мир, 1980.
3. Rubinstein L., Klatzo J., Miguel J. J. Neuropathol. a. Exptl. Neurol., 21, 116—136, 1962.
4. Karnovsky M. J., Roots L. A. J. Histochem. Cytochem., 12, 219—221, 1964.
5. Glenner G. G., Burtner H. J., Brown G. W. J. Histochem. Cytochem., 5, 591—600, 1957.
1. Бродский В. Я. Трофика клетки, М., Наука, 1966.
1. Rybeck C. J., Burns S., Morris R. Neurosci. Lett., 22, 313—318, 1981.
1. Gintzler A. R., Tamir H. Brain Res., 149, 519—524, 1978.
2. Кругликов Р. Н., Гольдберг М. Б., Майзелс М. Я., Заблудовский А. Л. Изв. АН СССР, сер. биол. н., 5, 778—781, 1980.

Поступила 20. VII 1983



УДК 612.015.1+577.153

ВЛИЯНИЕ ТАУРИНА НА СОДЕРЖАНИЕ БИОГЕННЫХ АМИНОВ И АКТИВНОСТЬ Na^+ , K^+ -АТФазы И Ca^{2+} -АТФазы РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛОВ МОЗГА КРЫС

МУРАЛИДАР К., УДАПА КУМАР М. А., ВЕНКАТЕСВАРА ПРАСАД Б.,
*САДАСИВУДУ Б.

Центр современных исследований в области нейрохимии, Отдел биохимии,
Османский медицинский колледж, Хайдарабад, Андра Прадеш, Индия

Через 30 мин после внутрибрюшинного введения крысам 2 мг таурина на 100 г массы заметных изменений его уровня в коре головного мозга, мозжечке и стволовой части мозга крыс не наблюдается. Введение таурина в дозе 10 мг/100 г массы приводит к значительному возрастанию его концентрации во всех трех областях мозга. К такому же результату приводит шестикратное (с интервалом в 1 ч) введение таурина в дозе 2 мг/100 г массы.

Повышение уровня таурина в трех исследованных отделах мозга приводит к возрастанию содержания 5-окситриптамина в коре и мозжечке и к существенному понижению его уровня в стволе мозга. При этих условиях содержание норадреналина возрастает только в мозжечке, а дофамин — в коре головного мозга. Активность МАО б-типа существенно понижена в коре и мозжечке и повышена в стволовой части мозга. Na^+ , K^+ -АТФаза ингибировалась в коре и мозжечке, а Ca^{2+} -АТФаза имела сниженную активность во всех трех отделах мозга. Аденозиндезаминидаза в противоположность этому имела более низкую активность в коре и мозжечке, но более высокую — в стволе.

Полученные результаты обсуждаются с точки зрения нейромодуляторной роли таурина.

Хотя содержание таурина в мозгу достаточно велико [1, 2], его метаболические эффекты и функциональная роль не выяснены окончательно. В ряде исследований представлены веские доказательства, что таурин может действовать в качестве нейромедиатора. В ткани мозга было обнаружено Na^+ -зависимое специфическое поглощение таурина; было показано, что его концентрация весьма высока в нервных окончаниях [3]. Высвобождение таурина можно наблюдать в среде, содержащей Ca^{2+} и высокую концентрацию K^+ [4, 5]. Электрофизиологические исследования показывают, что таурин, подобно ГАМК, ингибирует функцию отдельных нейронов [6]. Показано также присутствие декарбоксилазы цистеинисульфоновой кислоты в нервных окончаниях [3]. Однако медленный обмен таурина в мозгу и градуальное снижение

* Отмечено, кому следует направлять просьбы об оттиках.

его концентрации при переходе от неонатального мозга к взрослому противоречат точке зрения на роль таурина как нейромедиатора [7—10]. В последние годы рядом исследователей показана модуляторная функция таурина [11—13]. Модулирующий эффект может заключаться в воздействии на обмен медиаторов гипоталамуса или в прямом влиянии на ионные токи и высвобождении медиаторов из мест хранения. В настоящей работе приводятся результаты определения эффективной дозы таурина, необходимой для повышения его содержания в мозгу, и исследование его эффектов на содержание катехоламинов, серотонина, а также активность МАО, Na^+ , K^+ -АТФазы, Ca^{2+} -АТФазы и аденозиндезаминазы в различных отделах мозга.

Материалы и методы

В экспериментах использовали белых крыс одного возраста и массы (150—200 г). Все биохимические реактивы поставлялись фирмой «Sigma» (США), другие соединения имели квалификацию не ниже ч. д. а.

Таурин вводили внутривенно предварительно голодавшим в течение 12 ч животным. Две группы подопытных животных получали по 2 и 10 мг таурина на 100 г массы тела, вводимого в 1 мл солевого раствора. Контрольная группа животных получала по 1 мл солевого раствора, вводимого тем же способом. Третьей группе подопытных животных вводили таурин 6 раз с интервалом в 1 ч в дозе 2 мг/100 г массы, так, чтобы суммарное количество введенного таурина составляло 12 мг/100 г массы. Через 30 мин после последней инъекции животных декапитировали, быстро извлекали мозг и обрабатывали, как описано ранее [14].

Используемые отделы мозга (кора, мозжечок и ствол) после быстрого взвешивания дважды гомогенизировали в сильно охлажденной дистиллированной воде с помощью гомогенизатора Поттера с тефлоновым пестиком для получения 20%-ного гомогената, в котором определяли таурин. Для тестирования ферментативных активностей гомогенат приготавливали на соответствующих средах [17, 20, 23]. Кровь декапитированных животных собирали в сосуды с гепарином, из которых затем 1 мл плазмы использовали для определения содержания таурина.

В экспериментах с гомогенатом целого мозга 95% добавленного таурина было обнаружено в конечном элюате методом бумажной хроматографии.

Содержание биогенных аминов определяли спектрофотометрически по методу Ansell, Beeson [16], что позволило обнаружить 85—90% дофамина и норадреналина, но лишь 80—85% серотонина.

Определение активности МАО осуществляли по методу Green, Naughton [17], как описано ранее [18]. Na^+ , K^+ -АТФазу определяли по методу Whittaker, Barker [19] в модификации Sadasivudu и соавт. [20], измеряя прирост P_i по методике Lindberg, Ernster [21]. Активность

аденозиндезаминазы определяли по Martinek [22] в модификации Sadasivudu и соавт. [23].

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены данные о содержании таурина в исследуемых отделах мозга крыс в контроле и при нагрузке организма таурином в различных условиях. Наивысший уровень таурина был обнаружен в коре, значительно меньше его в мозжечке, наименьшее его количество содержится в стволовой части мозга. Аналогичные данные были получены другими исследователями [1, 2]. Через 30 мин после введения в организм таурина в дозе 2 мг/100 г массы не обнаруживалось существенного возрастания его уровня во всех трех отделах мозга. Однако при шестикратном введении указанной дозы с 1-часовым интервалом во всех трех отделах мозга отмечалось повышение концентрации таурина, наиболее выраженное в стволовой части мозга. При однократном введении таурина в дозе 10 мг/100 г массы оно также наблюдалось во всех трех отделах мозга и достигало приблизительно такого же уровня. По этой причине в дальнейших экспериментах был использован этот последний способ введения таурина.

В этих условиях уровень таурина в плазме крови повышался с 0,19 до 0,39 мкмоль/мл.

Изменения содержания норадреналина, дофамина и серотонина, а также активности МАО через 30 мин после однократного введения таурина в дозе 10 мг/100 г массы представлены в табл. 2. Значительное увеличение уровня норадреналина было обнаружено в мозжечке, а дофамина—в коре головного мозга. Существенное увеличение содержания серотонина отмечалось и в коре, и в ткани мозжечка. В то же время его уровень в стволовой части мозга понижался, при этом наблюдалось повышение активности МАО, тогда как в остальных отделах она достоверно снижалась.

Значительно снижалась также активность Na^+ , K^+ -АТФазы в мозжечке и коре головного мозга после однократного введения таурина в дозе 10 мг/100 г массы (табл. 3). В то же время заметных изменений активности этого фермента в стволе мозга не наблюдалось. Активность Ca^{2+} -АТФазы существенно ингибировалась во всех исследованных отделах мозга. Максимальное снижение активности этого фермента наблюдалось в мозжечке. Аденозиндезаминазная активность снижалась лишь в ткани коры и мозжечка. В стволовой части мозга она в тех же условиях возрастала.

Повышение содержания таурина во всех трех отделах мозга крысы после однократного введения его в дозе 10 мг/100 г массы ясно указывает на то, что таурин может проникать через ГЭБ. В то же время отсутствие этих изменений после однократного введения в 5 раз меньшего количества позволяет утверждать, что для быстрого возрастания уровня таурина в мозгу в организм необходимо вводить достаточно большие его количества. Многократные введения даже таких малых

Таблица 1

Содержание таурина в различных областях мозга крыс (мкг/г ткани)
после его внутрибрюшинного введения

Доза	К о р а		Мозжечок		Стволовая часть мозга		Плазма крови	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
2 мг/100 г массы	$2,403 \pm 0,318$ (8)	$2,660 \pm 0,057^*$ (3)	$1,570 \pm 0,247$ (10)	$1,66 \pm 0,57^*$ (3)	$1,004 \pm 2,234$ (7)	$1,05 \pm 0,05$ (3)		
10 мг/100 г массы	$2,403 \pm 0,318$ (10)	$2,808 \pm 0,538$ (9) $p < 0,05$	$1,570 \pm 0,217$ (10)	$2,010 \pm 0,262$ (8) $p < 0,001$	$1,004 \pm 0,234$ (7)	$1,312 \pm 0,157$ (6) $p < 0,02$	$0,20 \pm 0,01$ (2)	$0,39 \pm 0,01$ (2) $p < 0,001$
2 мг/100 г массы (6-кратно с интервалом в 1 ч)	$2,51 \pm 0,08$ (4)	$2,995 \pm 0,109$ (7) $p < 0,001$	$1,378 \pm 0,153$ (4)	$1,8136 \pm 0,1700$ (7) $p < 0,001$	$0,99 \pm 0,10$ (7)	$2,248 \pm 0,156$ (7) $p < 0,001$		

Примечание. *недостовверные отличия (то же в табл. 2, 3)

Влияние внутривидового переноса гамет (10 мг/100 г массы) на активность ферментов различных отделов мозга крыс (n=6)

Исследуемые отделы мозга	Ферментативная активность		Исследуемые отделы мозга		Ферментативная активность	
	кора	контроль	мозжечок	контроль	стволовая часть мозга	контроль
Общая АТФаза	1183,330±	92,418	571,66±	67,65	431,60±	940,00±
	p<0,005		p<0,005		p<0,005	
Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	293,33±	59,35	262,50±	57,42	121,06±	323,33±
	p<0,005		p<0,005		p<0,005	
Mg ²⁺ -АТФаза	890,0±	35,3	381,66±	69,40	327,0±	656,66±
	p<0,005		p<0,005		p<0,005	
Ca ²⁺ -АТФаза	88,33±	8,16	121,66±	14,71	25,0±	171,00±
	p<0,005		p<0,005		p<0,005	
Аденозиндезаминидаза	5,30±	0,32 (6)	3,975±	0,480	4,50±	0,35
	p<0,0025		p<0,0025		p<0,0025	

Примечание. Активность АТФаз выражена в мкмоль P_i/г ткани/ч, а аденозиндезаминидазы — в мкмоль NH₄/г ткани/ч.

Таблица 3

Влияние внутрибрюшинного введения таурина (10 мг/100 г массы) на активность
некоторых ферментов различных отделов мозга крыс (n=6)

Ферментативная активность	Исследуемые отделы мозга					
	кора		мозжечок		стволовая часть мозга	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Общая АТРаза	1163,330± 92,448	571,66± 67,65 p<0,005	1118,83± 129,06	431,60± 47,50 p<0,005	950,00± 119,19	680,0± 64,5 p<0,002
Na ⁺ , K ⁺ -АТРаза	293,33± 59,55	193,33± 59,21 p<0,025	262,50± 57,42	121,66± 50,76 p<0,005	323,33± 65,01	316,66± 103,27± p<0,005
Mg ²⁺ -АТРаза	890,0± 55,3	381,66± 69,40 p<0,005	655,83± 104,49	327,0± 36,6 p<0,005	656,66± 61,08	363,33± 100,13 p<0,005
Ca ²⁺ -АТРаза	88,33± 8,16	48,0± 10,1 p<0,005	121,66± 14,71	25,0± 10,0 p<0,005	171,00± 14,71	71,33± 15,66 p<0,005
Аденозиндезаминаза	5,30± 0,32 (6)	3,975± 0,480 p<0,0025	5,751± 0,43	4,50± 0,35 p<0,0025	6,99± 0,308	8,04± 0,48 p<0,0025

Примечание. Активность АТРаза выражена в мкмоль Р_i/г ткани/ч, а аденозиндезаминазы — в мкмоль NH₄⁺/г ткани/ч.

Таблица 3

Влияние внутрибрюшинного введения таурина (10 мг/100 г массы) на активность некоторых ферментов различных отделов мозга крыс (n=6)

Ферментативная активность	Исследуемые разделы мозга					
	кора		мозжечок		стволовая часть мозга	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Общая АТРаза	1183,330± 92,448	571,66± 67,65 p<0,005	1118,83± 129,06	431,60± 47,50 p<0,005	950,00± 119,19	680,0± 64,5 p<0,002
Na ⁺ , K ⁺ -АТРаза	293,33± 59,55	193,33± 59,21 p<0,025	262,50± 57,42	121,06± 50,76 p<0,005	323,33± 65,01	316,66± 103,27* p<0,005
Mg ²⁺ -АТРаза	890,0± 55,3	381,66± 69,40 p<0,005	855,83± 104,99	327,0± 36,6 p<0,005	656,66± 61,08	363,33± 100,13 p<0,005
Ca ²⁺ -АТРаза	88,33± 8,16	48,0± 10,1 p<0,005	121,66± 14,71	25,0± 10,0 p<0,005	171,00± 14,71	71,33± 15,66 p<0,005
Аденозиндезаминаза	5,30± 0,32 (6)	3,975± 0,480 p<0,0025	5,751± 0,43	4,50± 0,35 p<0,0025	6,99± 0,308	8,04± 0,48 p<0,0025

Примечание. Активность АТРаз выражена в мкмоль Р_i/г ткани/ч, а аденозиндезаминазы — в мкмоль NH₄⁺ ткани/ч.

частично объясняет наблюдаемые ингибиторные эффекты таурина на вызванное K^+ Ca^{2+} -зависимое высвобождение нейромедиаторов.

Повышение активности аденозиндезаминазы в стволе мозга с одновременным снижением активности этого фермента в коре и мозжечке свидетельствует о том, что подобные изменения не связаны с прямым влиянием таурина на фермент.

По-видимому, некоторые из обнаруженных изменений в активности Na^+ , K^+ -АТФазы и аденозиндезаминазы могли быть обусловлены осмотическим эффектом, вызванным введением больших количеств таурина в нормальном солевом растворе. Однако в то же время, когда животным вводили гипертонический (1,9%) солевой раствор, активность аденозиндезаминазы во всех трех исследованных областях мозга не изменялась.

Наблюдаемые сдвиги в активности аденозиндезаминазы независимо от их механизма, вероятно, связаны с тем, что введение таурина приводит к изменению уровня аденозина в мозгу, который играет самостоятельную нейромодуляторную роль [29—32].

Описанные эффекты таурина на Ca^{2+} -АТФазу мозга указывают, что, помимо его прямого действия на содержание некоторых существенных нейротрансмиттеров, таурин должен изменять и условия их высвобождения. Все это поддерживает гипотезу, согласно которой таурин выступает как нейромодулятор. Дальнейшим подтверждением этого вывода является эффект таурина на аденозиндезаминазу, которая может изменять концентрацию другого нейромодулятора—аденозина.

Авторы признательны Индийскому совету медицинских исследований за финансовое обеспечение работы К. Муралидара, Б. Венкатесвара Прасада и М. А. Удайа Кумара (раздел № 5/3—1 (i)/801BMS). Авторы благодарны д-ру П. С. В. Раманамурти (Национальный институт питания) за помощь в определении биогенных аминов.

EFFECTS OF TAURINE ON BIOGENIC AMINES, Na^+ , K^+ -ACTIVATED ATPase AND Ca^{2+} DEPENDENT ATPase IN DIFFERENT REGIONS OF RAT BRAIN

MURALIDHAR K., UDAYA KUMAR M. A., VENKATESWARA PRASAD B.,
SADASIVUDU B.

Centre for Advanced Research in Neurobiochemistry, Department of
Biochemistry, Osmania Medical College, Hyderabad-500 001,
Andhra Pradesh, India.

Half an hour after the Intraperitoneal administration of 2 mg. of taurine (T)/100 g. b. w. did not bring about any appreciable change in the concentration of T in either cerebral cortex, cerebellum or in brain stem. However, half an hour after the Intraperitoneal administration of 10 mg of T/100 g. b. w. brought about a significant increase in all the three regions of rat brain. Administration of six, hourly intraperitoneal injections of 2 mg of T/100 g. b. w. resulted in appreciable the same increase in its content in all the three regi-

ons of the brain. It was observed that a significant increase occurred in the content of 5-hydroxy tryptamine in cerebral cortex and in cerebellum, while a significant decrease was seen in brain stem. A significant increase in the content of noradrenaline in cerebellum only and in the content of dopamine in cerebral cortex only were observed under these experimental conditions. A significant decrease was seen in the activity of monoamine oxidase in cerebral cortex and in cerebellum while an increase in the activity of this enzyme was seen in brain stem.

The activity of Na^+ , K^+ activated ATPase was found to decrease significantly in cerebral cortex and in cerebellum, while in all the three regions the Ca^{2+} -dependent enzyme showed a significant decrease.

Adenosine deaminase was found to decrease in cerebral cortex and in cerebellum while in brain stem it showed an increase.

The above results were discussed in relation to the neuromodulatory role of T.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Piha R. S., Dja S. S., Unsitalo A. J. Ann. Med. Exptl. Biol. Fenniae (Helsinki), 40, 1—28, Suppl. 5, 1962.
2. Shaw R. K., Heine J. B. J. Neurochem., 12, 151—155, 1965.
3. Agarwal H. C., Davison A. N., Kaczmarek L. K. Biochem. J., 122, 759—763, 1971.
4. Kaczmarek L. K., Davison A. N. J. Neurochem., 19, 2355—2362, 1972.
5. Kuriyama K., Muramatsu M., Nakagawa K., Kakita K.—In: Taurine and neurological disorders (Barbeau A., Huxtable R. J., eds), p. 201—226, N. Y., Raven Press, 1978.
6. Curtis D. R., Watkins J. C. Pharmacol. Rev., 17, 347—391, 1965.
7. Awapara J. J. Biol. Chem. 225, 877—882, 1957.
8. Bouquet P. L., Fromageot P. Biochem. et biophys. acta, 97, 222—232, 1965.
9. Agarwal H. C., Davis J. M., Himwich W. A. J. Neurochem., 13, 607—615, 1968.
10. Ramirez de Gugliemore A. E., Gomez C. J. J. Neurochem., 13, 1017—1025, 1966.
11. Dolara P., Marino P., Buffoi F. Biochem. Pharmacol., 22, 2085—2094, 1973.
12. Dolara P., Agresti A., Giotti A., Pasquini G. Eur. J. Pharmacol., 24, 352—358, 1973.
13. Ehinger B. Brain Res., 60, 512—516, 1973.
14. Sadasivudu B., Indira Rao T., Radha Krishna Murthy Ch. Neurochem. Res., 2, 639—655, 1977.
15. Garvin A. Arch. Biochem. and Biophys., 91, 219—225, 1960.
16. Ansell G. B., Beeson M. F. Analyt. Biochem., 23, 196—206, 1968.
17. Green A. L., Haughton J. M. Biochem. J., 78, 172—175, 1961.
18. Sadasivudu B., Radha Krishna Murthy Ch. Arch. int. physiol. et biochem., 80, 67—82, 1978.
19. Whittaker V. P., Barker L. A.—In: Methods of Neurochemistry (Fried, R., ed.), v. 2. Marcel Dekker, N. Y., 1972.
20. Sadasivudu B., Indira Rao T., Radha Krishna Murthy Ch. Neurochem. Res., 2, 639—655, 1977.
21. Lindberg O., Ernster L.—In: Methods of Biochemical Analysis (Glick D., ed.), v. 3, Interscience, N. Y., 1956.
22. Martinek R. G. Clin. Chem., 9, 620, 1963.
23. Sadasivudu B., Rangavalli B., Moraliidhar K. IRCS. Med. Science, 9, 494—495, 1981.

24. Pack E. J., Jr., Awapara J. *Biochim. et biophys. acta*, 141, 499—506, 1967.
25. Nadine Urquhart, Perry T. L., Hansan S., Kennedy J. J. *Neurochem.*, 22, 871—872, 1974.
26. Huxtable R. J.—In: Taurine—Epilepsy, inotrophy and eyesight., TIPS—January 1982, p. 21—25, 1982.
27. Muramatsu M., Kakita K., Nakagawa K., Kuriyama K. *Jap. J. Pharmacol.*, 28, 259—268, 1978.
28. Mc. Bride W. J., Fredrickson C. A. *Federat. Proc.*, 39, 2701—2705, 1980.
29. Burnstock G.—In: *Handbook of Psychopharmacology* (Iverson S. D., Sayder S. H., eds), v. 5, p. 131—194, N. Y., Plenum Press, 1975.
30. Phillis J. W., Edstrom J. *Life sci.* 19, (7), 1041—1054, 1976.
31. Huang M., Daly J. W. *J. Neurochem.*, 23, 393—404, 1974.
32. Skolnick P., Nimitkitpaisan Y., Statvey L., Daly J. W. *J. Neurochem.*, 30, 1579—1582, 1978.

Поступила 9. IX 1983

В ИЗДАТЕЛЬСТВЕ «МИР» ГОТОВИТСЯ К ВЫПУСКУ В 1985 ГОДУ:

НОРМАН Д. Память и научение (пер. с англ.). М., Мир, 1985 (III кв.)—8 л. Тираж 15000 экз. Цена 70 к.

Автор уже известен советским читателям по книге Линдсей П., Норман Д. «Переработка информации у человека», М., Мир, 1974.

В настоящей монографии кратко и доступно на высоком профессиональном уровне изложены основы функционирования систем памяти в процессах переработки и преобразования информации у человека при выработке тех или иных навыков и умений.

Книга предназначена для нейрофизиологов, нейрохимиков, психологов, врачей, а также для читателей, интересующихся высшими функциями мозга.

ХАМОРИ П. Долгий путь к мозгу человека (пер. с венг.). М., Мир, 1985 (III кв.)—7 л. Тираж 15000 экз. Цена 65 к.

Монография известного венгерского нейроморфолога посвящена происхождению и эволюции нервной системы, а также органов чувств. Особое внимание уделено эволюции таких функций головного мозга, как эмоции, сон, пластичность, работа правого и левого полушарий и т. д.

Представляет интерес рассмотрение зон головного мозга в социальной эволюции человечества.

Книга предназначена для биологов разных специальностей, а также для читателей, интересующихся физиологическими основами высшей нервной деятельности.

ЭНДОГЕННОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ БЕЛКОВ В АНТЕННАХ
ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА BOMBYX MORI

ФЕСЕНКО Е. Е., КРАПВИНСКИЙ Г. Б., МАСЛОВ А. А., ПЕРВУХИН Г. Я.

Институт биологической физики АН СССР, Пущино,
Институт физиологически активных веществ АН СССР, Москва

Инкубация изолированных антенн тутового шелкопряда в растворе Рунгера, содержащем ^{32}P -ортофосфорную кислоту или введение её в гемолимфу бабочек, приводит к фосфорилированию антеннальных белков. При электрофоретическом разделении обработанных додецилсульфатом натрия (ДДС-Na) экстрактов антенн обнаружено 23—24 фосфорилированных антеннальных белка с M_r от 12 до 250 кД. Оба способа введения ^{32}P в антенны дают близкие наборы фосфорилированных белков.

Для биохимического исследования механизмов восприятия запахов животными очень удобными объектами являются насекомые: доля обонятельных рецепторных клеток достигает у них 30% от общего числа клеток обонятельного органа [1], причем у некоторых насекомых значительная часть обонятельных рецепторных клеток узко специализирована и реагирует избирательно на одно химическое вещество [2]. Поэтому нами были выбраны в качестве объекта исследования самцы тутового шелкопряда, обонятельные рецепторные клетки которых обладают специфической чувствительностью к половому феромону самки — бомбиколу [3, 4].

На сегодняшний день существует ряд данных, позволяющих предполагать, что циклические нуклеотиды и ферменты их метаболизма участвуют в механизмах хеморецепции [5—11], в том числе и обонятельной рецепции насекомых [12, 13]. С биохимической точки зрения важным шагом в доказательстве участия ферментной системы в механизме восприятия запаха является обнаружение модуляции активности фермента пахучим стимулом. Исследование циклонуклеотид- и стимулзависимого фосфорилирования белков обладает в этом плане существенным преимуществом, поскольку избирательность этого процесса позволяет выявить специфичный для данной реакции белковый субстрат, скорость и степень фосфорилирования которого зависят от стимула [14].

Первым шагом на этом пути является отработка методик изучения процессов фосфорилирования белков в intactных антеннах насекомого и получение спектра фосфорилируемых белков, что послужило целью данной работы.

Материалы и методы

Куколки тутового шелкопряда сортировали по полу и использовали в течение месяца после окукливания, сохраняя при 4°.

Бабочек выводили при 25—27°, используя в эксперименте на вторые—третьи сутки после выведения.

Фосфорилирование в изолированных антеннах. Антенны самцов помещали в модифицированный раствор Рингера (100 мкл/10 антенн) следующего состава (в мМ): KCl—25, MgCl₂—18, CaCl₂—3, NaHCO₃—15, глюкозы—215, pH 6,6 [15], 1 мК_в/мл ³²P-ортофосфорной кислоты (>8000 К_в/ммоль) и центрифугировали 10 мин при 3000 г при комнатной температуре. После инкубации ³²P-Рингер отбрасали, антенны заливали холодным солюбилизирующим раствором (62 мМ трис-HCl, pH 6,8, 2,3% ДДС-Na, 5% меркаптоэтанол, 10% глицерина), гомогенизировали стеклянным пестиком и оставляли на 1—2 ч. Затем гомогенат помещали в кипящую водяную баню на 2 мин, после охлаждения центрифугировали 10 мин при 4500 г, и супернатант использовали для электрофореза.

Фосфорилирование в антеннах у живых бабочек. В кровеносный сосуд бабочки в области сердца вводили 2 мкл раствора Рингера, содержащего 10 мК_в ³²P-ортофосфорной кислоты. Через 1 ч антенны отрезали, гомогенизировали в холодном солюбилизирующем растворе и далее готовили препарат для электрофореза, как описано выше.

Электрофорез в ДДС-Na-ПААГ проводили в пластинах толщиной 1,5 мм и длиной 140 мм, используя систему Laemmli [16]. Концентрация акриламида составляла 9%, в образце содержалось 70—100 мкг белка. Электрофорез проводили 5 ч при 12°, и гель прокрашивали Кумасси R-250. Высушенный гель экспонировали 14 суток с рентгеновской пленкой (Kodak X-ray film KD 59T). Пленку сенсibilizировали предсвечетской [17], и при экспозиции использовали сцинтиллирующий экран [18].

Радиоактивность ДДС-Na-экстрактов антенн определяли в сцинтилляторе Брея на счетчике «Inter technique SL-30», концентрацию белка—методом Lowry и соавт. [19], используя бычий сывороточный альбумин в качестве стандарта.

Результаты и обсуждение

В работе были использованы два подхода к включению ³²P-ортофосфата в антенны самцов тутового шелкопряда. В рамках первого из них была сделана попытка ввести изотоп в изолированные антенны насекомых путем их инкубации в растворе Рингера, содержащем ³²P-ортофосфат. С целью определения степени включения метки в клеточные структуры антенны после определенного времени инкубации в ³²P-Рингере отмывали в растворе, содержащем 10% трихлоруксусной кислоты, 10 мМ Na₃PO₄ и 10 мМ Na₂P₂O₇, при 0° и затем проводили экстракцию 2,3% ДДС-Na. Для максимальной экстракции белка антенны тщательно гомогенизировали стеклянным пестиком. В этих условиях из одной

антенны экстратрируется 35 ± 2 мкг белка. Однократная промывка гомогената антенны раствором ДДС-На приводит к вымыванию 90% радиоактивности, а после трех промывок в нерастворимой фракции остается менее 2% исходной метки.

Первые эксперименты показали, что при одинаковом времени инкубации антенн с ^{32}P количество метки, включенной в отдельные антенны, варьирует в десятки раз и обычно не превышает 1500 имп/мин на антенну при 30 мин инкубации. Этот разброс может быть существенно уменьшен до величины, не превышающей 15%, путем центрифугирования антенн в процессе их инкубации с ^{32}P . При этом значительно возрастает уровень включения ^{32}P , достигая ~ 10000 имп/мин на антенну. По нашему мнению, это объясняется, скорее всего, тем, что при центрифугировании происходит удаление микропузырьков воздуха, покрывающих гидрофобную хитиновую оболочку антенн и препятствующих проникновению ортофосфата внутрь антенн.

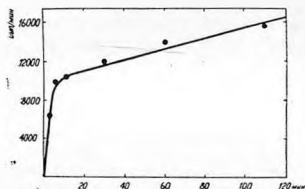


Рис. 1. Кинетика включения ^{32}P (имп/мин) в антенны самцов тутового шелкопряда. По оси абсцисс — время инкубации антенн в ^{32}P -растворе Рингера.

Кинетика включения ^{32}P в антенны самцов тутового шелкопряда имеет отчетливо выраженный двухстадийный характер (рис. 1). Быстрая стадия, которая длится меньше 10 мин, связана, по-видимому, с фосфорилированием белка. Как показали последующие эксперименты с электрофоретическим разделением фосфорилированных белков, увеличение времени инкубации антенн в ^{32}P -Рингере свыше 10 мин не приводит к увеличению числа фосфорилированных белков и количества связанного с белками ^{32}P . Медленная стадия, возможно, отражает включение изотопа в фосфолипиды [20]. Измельчение антенн перед инкубацией с ^{32}P не влияет на включение изотопа в белки. Это объясняется, по-видимому, тем, что при инкубации антенн или их фрагментов в ^{32}P -Рингере ортофосфат проникает в клетки не через антеннальный канал, заполненный гемолимфой, а через поры сенсилл и окружающую клетки рецепторную лимфу.

В рамках второго подхода была сделана попытка включить ^{32}P -ортофосфат в интактные антенны насекомых, с этой целью его вводили в гемолимфу живых бабочек. После введения изотопа бабочки живут по меньшей мере двое суток, сохраняя при этом нормальную поведенческую реакцию на феромон. Накопление ^{32}P в антеннах происходит

в течение первого часа после инъекции. При введении одинакового количества ^{32}P (10 мкК₁) содержание изотопа в антеннах разных особей варьирует от 15000 до 80000 имп/мин на антенну. Более длительное выдерживание бабочек после инъекции ^{32}P -ортофосфата (до 6 ч) не позволяет получить близкие уровни включения изотопа в антенны разных особей. Оказалось, однако, что уровни включения ^{32}P в правую и левую антенны одного насекомого близки: различие не превышает 20%. Это позволяет надеяться, что указанный способ включения ^{32}P в антенны насекомых может быть использован для исследования влияния феромона на фосфорилирование антеннальных белков.

Введение в клетки ^{32}P -ортофосфата двумя способами дает сходную картину наборов фосфорилированных белков, представляющих собой ми-

норные компоненты клетки. Это следует из того факта, что полосы, содержащие ^{32}P , не совпадают с основными белковыми полосами, идентифицированными по прокраске Кумасси (рис. 2). При разделении ДДС-Na-экстрактов антенн в геле с градиентом концентрации акриламида от 6 до 24% обнаружены две дополнительные полосы, содержащие радиоактивность и соответствующие M_r 18 и 250 кД.

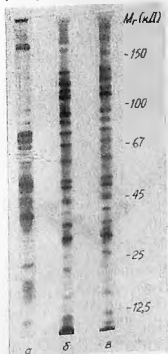


Рис. 2. Электрофоретическое разделение ДДС-Na-экстрактов антеннальных белков в 9% ДДС-Na-ПААГ. а - прокраска белков Кумасси R-250; б, в - радиоавтографы фосфорилированных белков; б - фосфорилирование при инкубации изолированных антенн в ^{32}P -Рингере; в - фосфорилирование при введении ^{32}P -ортофосфата в гемолимфу

Таким образом, введение ^{32}P -ортофосфата в антенны двумя способами позволяет выявить 23-24 фосфорилируемых антеннальных белка с M_r от 12 до 250 кД. Как следует из вышеизложенного, различие уровней включения метки в антенны насекомых не превышает 15% для антенн разных особей (первый способ) или 20% для антенн одного и того же насекомого (второй способ). Это делает, в принципе, возможным использование обоих подходов для поиска белковых компонентов рецепторных клеток, фосфорилирование которых регулируется циклическими нуклеотидами и феромоном. Очевидно, что с этой точки зрения преимуществом первого способа введения ^{32}P является возможность точного дозирования концентрации феромона или циклических нуклеотидов. Его возможный недостаток заключается в следующем. По данным Riddiford [21], длительное вымачивание антенн насекомого в растворе Рингера

приводит к временному исчезновению поведенческой реакции бабочек на феромон. По мнению автора, это может быть обусловлено вымыванием из антенн неких белковых компонентов, участвующих в доставке феромона к рецепторам. В этом случае требуется специальная проверка доступности рецепторных клеток для феромона после длительной инкубации антенн в растворе.

Преимуществом второго способа является сохранение интактности антенн насекомого, позволяющее применять естественный способ доставки феромона к рецепторным клеткам. Его недостатками являются, с одной стороны, сложность точного дозирования концентрации феромона, а с другой—различие количеств ^{32}P в антеннах разных особей. Последнее ограничивает его применение экспериментами, в которых в качестве контроля может быть использован уровень включения ^{32}P в одну из двух антенн животного.

Из приведенных данных следует, что для детального изучения влияния феромона и циклических нуклеотидов на фосфорилирование белков антенн могут оказаться необходимыми оба описанных выше способа включения ^{32}P . С этой точки зрения существенно, что оба они дают сходную картину наборов фосфорилированных белков.

ENDOGENOUS PHOSPHORYLATION OF PROTEINS IN SILKMOTH BOMBYX MORI ANTENNAE

FESENKO E. E., KRAPIVINSKIY G. B., MASLOV A. A., PERVUKHIN G. Ja.

Institute of Biological Physics, USSR Academy of Sciences, Poustchino;
Institute of Physiologically Active Substances, USSR Academy of Sciences, Moscow

Phosphorylation of antennal proteins has been performed by incubation of male silkmoth isolated antennae in Ringer solution, containing ^{32}P -orthophosphate or by injection of ^{32}P -orthophosphate into the moth hemolymph. 23—24 phosphorylated antennal proteins with molecular weights in the range from 12 to 250 kD have been separated on SDS-PAGE of antenna extracts. Both methods of phosphorylation produce similar sets of phosphorylated proteins.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Kaissling K.—E.*—In: Handbook of Sensory Physiology (ed. by Beidler L. M.), p. 351—431. Springer, Berlin-Heidelberg—New York, v. 4 (Part 1), 1971.
2. *Schneider D., Lacker V., Kaissling K.—E.* Z. Vergleichung Physiol., 48, 632—662, 1964.
3. *Kaissling K.—E., Preisner E.* Naturwissenschaften, 57, 23—28, 1970.
4. *Steinbrecht R. A., Z. Zellforsch.* 139, 533—565, 1973.
5. *Минор А. В., Сакина Н. Л.* Нейрофизиология, 5, 415—422, 1973.
6. *Meneuse A., Dodd J., Poynder T.* Biochem. and Biophys. Res. Commun., 77, 671—677, 1977.
7. *Минор А. В.*—В сб.: Сенсорные системы. Обоняние и вкус, с. 3—18, Л., Наука, 1980.

8. Rasmussen H. Soc. Gen. Physiol. Ser., 32, 243—268, 1977.
9. Mato J. M., Malchow D.—In: Zelluläre Communications und Kontrolmechanisms, 2. Frühjahrskolloquium der Universität Bremen. (ed. by Reinsing. L. and Roth. G.), p. 181—190, Springer, Berlin-Heidelberg—New York, 1978.
10. Keller H. U., Gerisch G., Wissler J. H. Cell. Biol. Int. Reports, 3, 759—765, 1979.
11. Vande Berg J. S.—In: Perceptual and Behavioral Chemistry (ed. by Norris D. M.), p. 103—131, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1981.
12. Villet R. H. Comp. Biochem. and Physiol., 67C, 389—394, 1978.
13. Никонов А. А., Крапивинский Г. Б.—В сб.: Физико-химические основы функционирования клеток, с. 99—102, Пуцдино, 1983.
14. Hinno H. G., Cohen Ph. Advances in Cyclic Nucleotide Research, 8, 145—266, 1977.
15. De G. Weewers R. J. Exp. Biol., 44, 163—175, 1966.
16. Laemmli U. K. Nature (Lond.), 227, 680—685, 1970.
17. Laskey R. A., Mills A. D. Eur. J. Biochem., 56, 335—341, 1975.
18. Laskey R. A.—In: Methods in Enzymology (ed. by Grossman L. and Moldave K.), p. 363—373, New York, Academic Press, 1980.
19. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
20. Davidson A. N.—In: Comprehensive Biochemistry (ed. by Florin M., Stotz. E. H.), p. 293—329, Elsevier Amsterdam—London—New York, 1970.
21. Riddiford L. M. J. Insect. Physiol., 16, 653—660, 1970.

Поступила 16. IV 1983

ИЗДАТЕЛЬСТВО «ШТИНЦА» (КИШИНЕВ) ГОТОВИТ В 1985 г. К ПЕЧАТИ КНИГУ:

ФУРДУИ Ф. И., ХАЙДАРЛИУ С. Х., МАМАЛЫГА Л. М. Комбинированные воздействия на организм экстремальных факторов (на русском языке; 10 л., тираж 1300 экз., цена 1 р. 60 к.)

На основании собственных экспериментальных материалов и данных мировой литературы рассмотрены механизмы регуляции биохимических и физиологических реакций различных систем организма при сочетании действия на него экстремальных факторов. Показано значение степени проявления специфического и неспецифического компонентов ответной реакции организма в адаптации и дезадаптации при многофакторных воздействиях.

Монография предназначена для физиологов, биохимиков, аспирантов, студентов биологических факультетов университета и медицинских институтов.

8. Rasmussen H. Soc. Gen. Physiol. Ser., 32, 243—268, 1977.
9. Mato J. M., Malchow D.—In: Zelluläre Communications und Kontrolmechanisms, 2. Frühjarskolloquium der Universität Bremen. (ed. by Reinsing. L. and Roth. G.), p. 181—190, Springer, Berlin-Heidelberg—New York, 1978.
10. Keller H. U., Gerisch G., Wissler J. H. Cell. Biol. Int. Reports. 3, 759—765, 1979.
11. Vande Berg J. S.—In: Perceptual and Behavioral Chemistry (ed. by Norris D. M.), p. 103—131, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1981.
12. Villet R. H. Comp. Biochem. and Physiol., 67C, 389—394, 1978.
13. Никонов А. А., Крапивинский Г. Б.—В сб.: Физико-химические основы функционирования клеток, с. 99—102, Пушину, 1983.
14. Himmo H. G., Cohen Ph. Advances in Cyclic Nucleotide Research, 8, 145—266, 1977.
15. De G. Weewers R. J. Exp. Biol., 44, 163—175, 1966.
16. Laemmli U. K. Nature (Lond.), 227, 680—685, 1970.
17. Laskey R. A., Mills A. D. Eur. J. Biochem., 56, 335—341, 1975.
18. Laskey R. A.—In: Methods in Enzymology (ed. by Grossman L. and Moldave K.), p. 363—373, New York, Academic Press, 1980.
19. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
20. Davidson A. N.—In: Comprehensive Biochemistry (ed. by Florin M., Stotz. E. H.), p. 293—329, Elsevier Amsterdam—London—New York, 1970.
21. Riddiford L. M. J. Insect. Physiol., 16, 653—660, 1970.

Поступила 16. IV 1983

ИЗДАТЕЛЬСТВО «ШТИНЦА» (КИШИНЕВ) ГОТОВИТ В 1985 г. К ПЕЧАТИ КНИГУ:

ФУРДУИ Ф. И., ХАЙДАРЛИУ С. Х., МАМАЛЫГА Л. М. Комбинированные воздействия на организм экстремальных факторов (на русском языке; 10 л., тираж 1300 экз., цена 1 р. 60 к.)

На основании собственных экспериментальных материалов и данных мировой литературы рассмотрены механизмы регуляции биохимических и физиологических реакций различных систем организма при сочетанном действии на него экстремальных факторов. Показано значение степени проявления специфического и неспецифического компонентов ответной реакции организма в адаптации и дезадаптации при многофакторных воздействиях.

Монография предназначена для физиологов, биохимиков, аспирантов, студентов биологических факультетов университета и медицинских институтов.



УДК 577.121.7+616.831+616.85

АКТИВНОСТЬ ЦИТОХРОМОКСИДАЗЫ И СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОХРОМОВ В МОЗГУ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОМ СТРЕССЕ

ГУЛЯЕВА Н. В.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии
АН СССР, Москва

Определяли активность цитохромоксидазы (ЦО) и содержание цитохромов в гомогенатах отделов мозга крыс с экспериментальным неврозом, вырабатываемым в результате хронического эмоционально-болевого стресса. Активность ЦО в коре больших полушарий головного мозга была повышена после 1- и 3-недельной невротизации, а в гиппокампе и гипоталамусе после 3-недельной невротизации. После 1-недельной невротизации содержание цитохрома *a* в коре снижалось. Полученные данные обсуждаются в свете гипотезы о развитии гипоксии в отделах мозга при неврозе и рассматриваются в сравнении с имеющимися в литературе данными об активности ЦО и содержании цитохромов в мозгу при различных моделях гипоксии и ишемии.

Изучение патологии высшей нервной деятельности человека на моделях с использованием экспериментальных животных представляет значительный интерес, так как дает возможность получить данные о соотношении функциональных нарушений и изменений в ЦНС на клеточном и субклеточном уровнях. Хроническое эмоционально-болевое стрессирование крыс приводит к психовегетативным расстройствам, характерным для неврозов. Нарушения высшей нервной деятельности выражаются в выпадении условных положительных рефлексов, растормаживании дифференцировок, увеличении числа межсигнальных реакций, появлении уравнительных, парадоксальных и ультрапарадоксальных фаз. У невротизированных животных наблюдаются также вегетативные нарушения со стороны сердечно-сосудистой, дыхательной и других систем [1, 2].

Согласно гипотезе, высказанной Айрапетянцем [3], механизм патогенеза невроза может быть связан с созданием гипоксических условий в мозгу стрессированных животных. В соответствии с этой гипотезой находятся данные Александровской и Кольцовой [4, 5], полученные при изучении морфологических особенностей сенсомоторной коры мозга кроликов с экспериментальным неврозом. Этими авторами выявлены гипоксические изменения, характеризующиеся сосудистыми расстройствами

с явлениями капилляропатий, нарушениями проницаемости капилляров, периваскулярными отеками, наличием базофильных тромбов, изменениями астроцитов. Коллагенизация соединительных ниточек между сосудами и гиперплазия сосудов, особенно капиллярной сети, с увеличением их поверхности являются, по мнению авторов, выражением компенсаторной пластичности микроциркуляторной системы кровообращения в ответ на кислородную недостаточность ткани мозга. Развитие компенсаторных приспособительных процессов в структурах мозга при неврозе подтверждается данными о состоянии нейронов и элементов глии. В пользу возможности создания гипоксии в мозгу невротизированных животных свидетельствуют также данные о снижении у них скорости локального мозгового кровотока в процессе невротизации [1].

Кислородное голодание вызывает метаболические перестройки в тканях, влияя, главным образом, на систему биологического окисления. Реакции мозга на гипоксию на клеточном уровне направлены как на максимально возможное усиление процессов, связанных с генерацией энергии, так и на обеспечение более экономного расходования энергетических ресурсов [6]. Наиболее характерным для адаптации клеток животных к хронической гипоксии является повышение способности утилизировать кислород при пониженном содержании его в крови [7]. Метаболическая регуляция кислороддефицитных состояний происходит на уровне митохондриального аппарата и в значительной степени осуществляется путем трансформации активности дыхательных ферментов [8]. Адаптивные изменения в этом случае основаны на устойчивой активации энергетического метаболизма с целью сохранения соотношений показателей энергообмена на уровне, близком к таковому в нормальных условиях.

В норме окислительное фосфорилирование поставляет более 95% свободной энергии, необходимой для физиологической активности и существования клеток мозга [9]. Основным дыхательным ферментом, непосредственно использующим кислород, является митохондриальная ЦО (К.Ф. 1. 9. 3. 1., ферроцитохром *c*: кислород оксидоредуктаза), терминальный фермент дыхательной цепи, осуществляющий окисление цитохрома *c* с кислородом воздуха, сопровождающееся восстановлением O_2 до воды. Цитохромоксидазная активность обладает сложный олигомерный комплекс, включающий цитохромы *a* и *a₃*, расположенный во внутренней митохондриальной мембране. Цитохромоксидазная активность очень вариабельна и зависит от многих факторов, включая температуру, доступность кислорода, присутствие фосфолипидов и т. д. Имеются данные о том, что активность ЦО изменяется в условиях гипоксии [8, 10] и при стрессе [11].

В задачу данной работы входило выявление изменений в системе биологического окисления при экспериментальном неврозе и сопоставление их с изменениями, описанными при различных моделях гипоксии. Для этого проводили определение активности ЦО и содержания цитохромов *a* и *c* в гомогенатах отделов мозга крыс, подвергнутых невротизи-

зирующему воздействию (хроническому эмоционально-болевого стрессу). Представлялось целесообразным использование гомогенатов, так как наблюдаемые в них изменения активности ЦО не всегда регистрируются при выделении субклеточных препаратов, например, митохондрий [12].

Материалы и методы

В работе использовали 40 белых 3—4-месячных беспородных крыс-самцов. Хроническое эмоционально-болевое стрессирование проводили в течение 1 или 3 недель по схеме, описанной в работе Нечт и соавт. [13]. Группу крыс, не подвергавшуюся невротизации, но взятую в опыт при измерении физиологических характеристик наряду с невротизированными группами использовали в качестве контрольной. Через 1 день после прекращения 1- или 3-недельной невротизации или через 3 недели после прекращения 3-недельной невротизации животных декапитировали, извлекали мозг и охлаждали его в ледяной среде выделения в течение 1 мин. Состав среды выделения (в мМ): сахараза—300, ЭДТА—0,5, KH_2PO_4 —2, морфолинпропаульфоновая кислота (MOPS)—10, pH 7,4. Выделяли кору, гиппокамп и гипоталамус и гомогенизировали ткань на холоду в двойном объеме среды выделения, используя стеклянные гомогенизаторы. Активность ЦО определяли полярографически, используя закрытый электрод кларковского типа, на полярографе LP-60 в системе, содержащей 2 мМ аскорбат натрия и 100—400 мкМ N,N,N',N'-тетраметил-п-фенилсиднамингидрохлорида (ТМФД) [14]. Объем полярографической ячейки—1,3 мл, температура—28°. Состав среды инкубации (в мМ): KCL—20; сахараза—80; MOPS—10; pH 7,4. Суспензию в ячейке перемешивали на магнитной мешалке. В этих условиях скорость потребления кислорода гомогенатами изменялась пропорционально количеству ткани в ячейке в пределах 10—50 мг/1 ячейка. Определение скорости потребления кислорода при окислении аскорбата ТМФД проводили в присутствии 1,6 мМ амиталя натрия. Активность ЦО при хранении гомогенатов во льду была стабильна, по крайней мере, в течение 3 ч.

Для регистрации спектров цитохромов в одну из кювет добавляли (в мМ): сукцинат натрия—5; амиталя—2,5; 2,4-динитрофенола (ДНФ)—60; NADH—0,1 и KCN—2 (восстановленные цитохромы), а в другую—амиталя—2,5; ДНФ—60 и NADH—0,1 (окисленные цитохромы). В обе кюветы вносили одинаковое количество гомогената, перемешивали и записывали дифференциальный спектр цитохромов [15]. Расчет концентраций цитохромов проводили, используя способы, описанные Евтодченко и Моховой [16].

Результаты и обсуждение

Активность ЦО в коре (7,7 нмоль O_2 /мин/мг ткани) была в 1,4 раза выше, чем в гиппокампе и гипоталамусе (5,5—5,6 нмоль O_2 /мин/мг тка-

ни), что соответствует более высокому содержанию цитохромов в коре мозга."

На рис. 1—3 представлены данные измерения активности ЦО и содержания цитохрома *a* в гомогенатах коры головного мозга (рис. 1), гиппокампа (рис. 2) и гипоталамуса (рис. 3) у крыс после 1- и 3-недельной невротизации. Активность ЦО в коре достоверно повышалась через

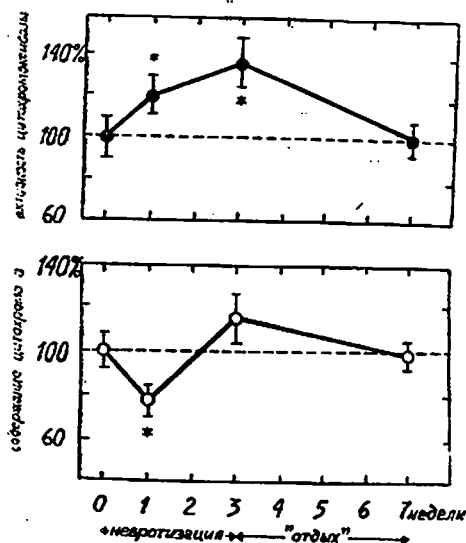


Рис. 1. Активность цитохромоксидазы и содержание цитохрома *a* в коре больших полушарий головного мозга крыс при невротизации и последующем «отдыхе». За 100% приняты соответствующие параметры группы контрольных животных

1 и 3 недели невротизации (на 20 и 30% соответственно по сравнению с уровнем ЦО в контроле, принятом за 100%). В гиппокампе и гипоталамусе достоверное повышение активности ЦО (на 17 и 26% соответственно) наблюдалось только после 3-недельной невротизации, а повышение активности через 1 неделю невротизации было недостоверно. Активность ЦО после 4-недельного «отдыха» обычно не отличалась от контрольной: некоторое снижение активности по сравнению с контрольным уровнем обнаружено в гиппокампе после «отдыха».

Содержание цитохрома *a* было достоверно снижено в коре больших полушарий мозга после 1-недельной невротизации (рис. 1). Тенденция к снижению содержания цитохрома *a* после 1-недельной невротизации наблюдалась также в гиппокампе (рис. 2). После 3-недельной невротизации и последующего «отдыха» содержание цитохрома *a* не отлича-

лось от контрольного во всех изученных отделах мозга. Хроническое стрессирование не влияло на содержание цитохромов $c+c_1$ в отделах мозга крыс (таблица).

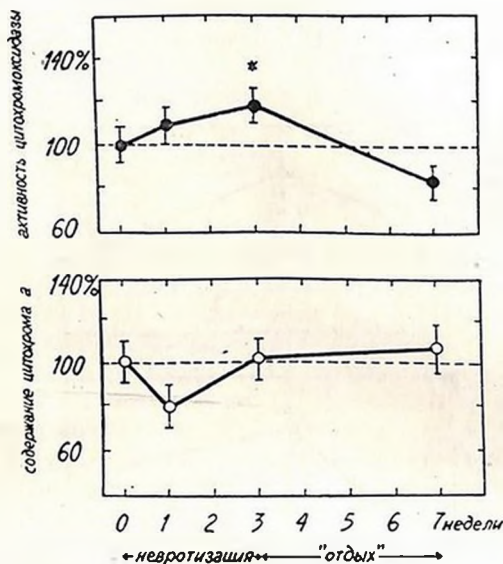


Рис. 2. Активность цитохромоксидазы и содержание цитохрома a в гиппокампе. Обозначения те же, что на рис. 1.

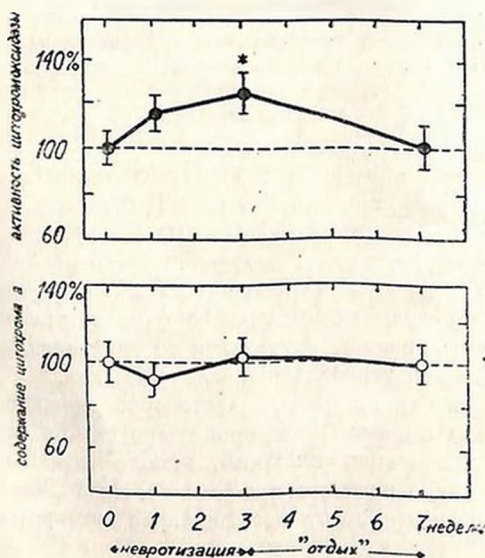


Рис. 3. Активность цитохромоксидазы и содержание цитохрома a в гипоталамусе. Обозначения те же, что на рис. 1.

Масса мозга у человека составляет около 4% от массы тела, а потребление O_2 мозгом в покое достигает 15—20% от общего потребления O_2 организмом [17]. Особая зависимость нервной ткани от адекватного снабжения O_2 обусловлена большой величиной отношения поверхности к объему ткани [18]. В мозгу обычно обнаруживаются четкие корреляции между локальным кровотоком, потреблением O_2 и нейронной активностью. При физиологических условиях происходит непрерывное приведение в соответствие энергетического снабжения потребностям мозга. Показано, что региональные изменения мозгового кровотока являются вторичными по отношению к региональным метаболическим событиям, происходящим в нейронах коры мозга [18]. Неспособность мозга поддерживать ионный гомеостаз в аномальных состояниях (например, при пониженной доступности O_2) позволяет предположить, что в норме метаболизм мозга осуществляется при критическом уровне снабжения O_2 [19]. По мнению большинства исследователей, кора мозга в норме функционирует на грани гипоксии, хотя существует точка зрения, что нормальное поступление O_2 более чем адекватно для функции клеток мозга [20].

Таблица

Отношение содержания цитохромов $c+c_1$ в гомогенатах различных отделов мозга

Экспериментальные группы	Кора	Гиппокамп	Гипоталамус
Невротизация 1 неделя	$1,08 \pm 0,09$	$0,91 \pm 0,10$	$1,10 \pm 0,08$
Невротизация 3 недели	$1,13 \pm 0,10$	$1,08 \pm 0,08$	$1,10 \pm 0,13$
Отдых 4 недели	$0,68 \pm 0,06$	$0,95 \pm 0,09$	$1,02 \pm 0,05$

Примечание. В таблице представлены отношения содержания цитохрома $c+c_1$ в соответствующих отделах мозга каждой экспериментальной группы крыс к содержанию цитохромов $c+c_1$ в отделах мозга контрольных животных (животные, не подвергавшиеся невротизации, но использованные в опытах по измерению физиологических параметров наряду с невротизированными крысами). Ни одно из отношений достоверно не отличается от 1.

При развитии экспериментального невроза происходит значительное снижение скорости локального мозгового кровотока [1], создающее основу для гипоксии и, возможно, даже для ишемии отдельных участков мозга. Многочисленными исследованиями показано, что кислородное голодание неизбежно вызывает нарушения энергетического метаболизма мозга. В зависимости от типа (модели) гипоксии, ее длительности и степени развития ЦНС животных потребление O_2 мозгом и другие параметры энергетического метаболизма мозга изменяются разнонаправленно [21, 22]. Гипоксический стресс (20 мин, «высота» 9000 м) приводит к значительному повышению активности ЦО в коре, подкорковых структурах и продолговатом мозгу 5- и 60-дневных крыс [10], сопровож-

дающемуся снижением содержания цитохромов $a+a_3$ в отделах мозга 5-дневных и в коре мозга 60-дневных крыс [23]. Тренировки кроликов к условиям высотной гипоксии («высота» 7000 м, 1 ч/день, 4 дня) повышают скорость энергетических процессов в мозгу, а при увеличении их длительности до 8 дней наблюдается снижение содержания макроэргических фосфатов и энергопотенциала системы адениннуклеотидов мозга, несмотря на повышенную активность ферментов дыхательной цепи [8]. Активация дыхательных ферментов при тренировках к гипоксии интерпретируется авторами как основа адаптивных изменений, повышающих устойчивость мозга к гипоксии и эффективность использования кислорода. Гипоксия, ишемия, гипогликемия и *status epilepticus* в опытах с крысами и обезьянами характеризуются относительно сходными повреждениями нейронов в неокортексе, гиппокампе, стриатуме и таламусе [24]. Предполагается, что в конечном повреждении нейронов участвуют факторы, определяемые окислительным метаболизмом.

Имеется чрезвычайно мало литературных данных, связывающих хронический стресс и изменения энергетического метаболизма мозга. Известно, что изменение различных показателей метаболизма в мозгу зависит от характера стрессирующего воздействия и его длительности, а также от степени участия в ответной реакции определенных структур мозга.

По нашим данным, хроническое эмоционально-болевое стрессирование вызывает повышение активности ЦО, наиболее выраженное в коре мозга через 3 недели воздействия. Этот эффект не сопровождается синтезом фермента *de novo*, так как содержание цитохрома *a* в отделах мозга после 3-недельного стрессирования не изменяется. Более того, после 1-недельной невротизации содержание цитохрома *a* в коре достоверно снижается, хотя активность ЦО в этот период уже превышает норму. Выявленные в коре изменения в меньшей степени проявляются в подкорковых структурах. Активность ЦО достоверно возрастает в гиппокампе и гипоталамусе только после 3-недельной невротизации. Содержание цитохрома *a* в гипоталамусе не изменяется, а в гиппокампе имеет тенденцию к снижению после 1-недельного стрессирования. Невротизация не оказывает существенного влияния на содержание в отделах мозга цитохрома *c*. Мы предполагаем, что, как и в случае тренировок животных к гипоксии [8], активация ЦО в процессе адаптации мозга к стрессирующему воздействию происходит в результате конформационной перестройки фермента. Не исключается также возможность того, что вследствие высвобождения ферментов лизосом, отмечаемого при гипоксии, и их действия на митохондриальные фосфолипиды [25] происходит изменение активности ЦО, которая зависит от присутствия фосфолипидов с ненасыщенными жирными кислотами [26]. Снижение содержания цитохрома *a* через 1 неделю невротизации согласуется с данными о снижении содержания цитохрома *a* в условиях гипоксии в мозгу и печени («высота» 7000 м, 20 мин) [23] и в сердце и печени крыс (экспозиция 10% O_2 в течение 24 и 48 ч) [27].

Очевидно, адаптация мозга к гипоксическим условиям, создающимся вследствие снижения скорости локального мозгового кровотока, при экспериментальном неврозе заключается в компенсаторном повышении эффективности утилизации кислорода при пониженной его доступности, осуществляемом, в частности, путем повышения активности ключевого фермента дыхательной цепи ЦО. Принимая во внимание литературные данные, следует полагать, что полученные нами результаты являются свидетельством в пользу гипотезы о развитии гипоксии в отделах мозга экспериментальных животных при формировании неврозоподобного состояния.

CYTOCHROME OXIDASE ACTIVITY AND CYTOCHROME CONTENT IN RAT BRAIN UNDER CHRONIC EMOTIONAL-PAINFUL STRESS

GULIAJEVA N. V.

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, USSR Academy of Sciences, Moscow

The cytochrome oxidase activity and the content of cytochromes a and $c + c_1$ were determined in homogenates of cerebral cortex, hippocampus and hypothalamus of rats with experimental neurosis evoked by chronic emotional-painful stress. Cortical cytochrome oxidase activity was elevated after one or three weeks of stress and the activity in hippocampus and hypothalamus after three weeks of stress. Cortical cytochrome a content decreased after one week of stress. The results are discussed in view of the hypothesis about the development of cerebral circulatory hypoxia in neurosis and are compared with some data concerning cerebral cytochrome oxidase activity and cytochrome content in various hypoxia and ischemia models.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айрапетянц М. Г., Вейн А. М. Неврозы в эксперименте и клинике, М., Наука, 1982.
2. Хананашвили М. М. Информационные неврозы, Л., Медицина, 1978.
3. Айрапетянц М. Г. Некоторые возможные механизмы патогенеза неврозов в свете новых экспериментальных фактов. Симпозиум по неврозам, с. 10, Гавана, 1980.
4. Александровская М. М., Кольцова А. В. Журн. высш. нерв. деят.-сти, 28, 529—537, 1978.
5. Александровская М. М., Кольцова А. В. Журн. высш. нерв. деят.-сти, 30, 747—753, 1980.
6. Гастева С. В. Всесоюз. симпозиум «Механизмы пластичности мозга при функциональных и патологических воздействиях», тез. докл., т. 1, с. 88, Махачкала, 1982.
7. Нейфах С. А.—В сб.: Молекулярные механизмы адаптации к гипоксии, с. 11—31, Киев, Наукова думка, 1978.
8. Шуматова Е. Н., Миронова Г. В., Варыпаева И. С.—В сб.: Дегидрогеназы в норме и патологии, с. 43—45, Горький, 1980.
9. Jobsis F. F. Adv. in neurology, 26, 299—318, 1979.
10. Koudelova J., Mourek J. Physiol. bohemosl., 30, 405—410, 1931.

11. Давыдов В. Б., Твердохлеб В. П., Якушев В. С. Укр. биохим. журн., 53, 6, 40—44, 1981.
12. Villa R. F. Eur. Neurol., 20, 245—252, 1981.
13. Hecht K., Lioushina I. Boletín del centro para el estudio de las neurosis, 1, p. 77—89, 1977.
14. Schnittman C., Ervin V. G., Greenwalt J. W. J. Cell. Biol., 32, 719—735, 1967.
15. Борисов А. Ю., Ларионов В. Н., Мохова Е. Н. Биол. науки, 8, 118—128, 1970.
16. Евтодиченко Ю. В., Мохова Е. Н.—В сб.: Механизмы дыхания, фотосинтеза и фиксации азота, с. 35—48, М., Наука, 1967.
17. Лукьянова Л. Д., Билмуханов Б. С., Уголев А. Т. Кислородзависимые процессы в клетке и ее функциональное состояние, с. 19, М., Наука, 1982.
18. Yarovsky P. J., Ingvar D. H. Federal. Proc., 40, 2353—2362, 1981.
19. Morris H. E. Can. J. Physiol. and Pharmacol., 52, 872—882, 1974.
20. Kreisman N. R., Sick T. J., La Manna J. C., Rosental M. Brain. Res., 218, 161—174, 1981.
21. Trojan S.—In: Ontogenesis of the brain, v. 3, p. 291—299, Praha, 1980.
22. Trojanova M., Mourek J., Trojan S.—In: Ontogenesis of the brain, v. 3, p. 315—329, Praha, 1980.
23. Dobesova Z., Mourek J.—In: Ontogenesis of the brain, v. 3, p. 375—383, Praha, 1980.
24. Siesjö Bo K., Rehncrona S., Smith D. Acta physiol. scand., Suppl. 492, 121—128, 1980.
25. Vasdev S. C., Kako K. J. Res. Commun. Chem. Pathol. and Pharmacol., 27, 599—602, 1980.
26. Vik S. B., Capaldi R. A. Biochemistry, 16, 5755—5769, 1980.
27. Kinnula V. L., Hassinen I. Acta physiol. scand., 99, 462—466, 1977.

„

Поступила 13. VI 1983



УДК 577.156:612.015

НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ МЕМБРАННЫЕ АНТИГЕНЫ
В ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

БЕРЕЗИН В. А., ЖМАРЕВА Е. Н., ШАПОВАЛ Т. И., ЖОЛУДЬ Л. М.

Кафедра биофизики и биохимии Днепропетровского государственного университета,
*НИИ нейрохирургии МЗ УССР, Киев

Изучено распределение двух нейроспецифических мембранных белков— D_2 и PS-2 в образцах опухолей мозга человека в зависимости от их гистоструктуры, гистогенеза и степени злокачественности. Антигены D_2 и PS-2 были идентифицированы перекрестным иммуноэлектрофорезом солиubilизированных тритоном X-100 белков мембранной фракции мозга взрослого человека после хроматографии на фенил-сефарозе. Количественное определение белка D_2 проводили ракетным иммуноэлектрофорезом, а PS-2—методом ракетно-линейного иммуноэлектрофореза.

Все опухоли нейроэктодермального происхождения содержали белок D_2 . Присутствие его в астроцитах и других глиомах указывает на то, что глиомам присущ «потенциал дифференцировки» нейронального типа, в норме отсутствующий в глиальных элементах мозга. Антиген PS-2 отсутствует во всех изучаемых опухолях соединительнотканного и эпителиального происхождения и обнаруживается не во всех опухолях нейроэктодермального происхождения. Содержание обоих антигенов в опухолях не коррелирует со степенью их малигнизации.

Большое число исследований было проведено по количественной оценке нейроспецифических белков в опухолях головного мозга человека с целью обнаружения маркеров, пригодных для гистологической диагностики и определения степени злокачественности опухолей [1]. Наиболее изучены в этом плане белок S-100 [2], кислый глиальный фибриллярный белок [2, 3] и α_2 -гликопротеин [4]. Все эти антигены в основном представлены немембранными растворимыми формами. Вопрос о наличии специфических только для опухолей антигенов остается открытым [1]. Так, было показано, что в глиобластомах и менингиомах присутствуют несколько антигенов, которые не обнаруживаются в фетальном либо взрослом нормальном человеческом мозгу. Однако эти антигены дают перекрестную иммунологическую реакцию с антигенами нормальной печени и, таким образом, не являются опухолеспецифическими [2]. В других случаях перекрестная специфичность таких неоантигенов не проверялась [5].

Принято считать, что из всех нейроспецифических белков кислый

глияльный фибриллярный белок—наиболее удачный маркер, имеющий диагностическое значение для решения ряда проблем, связанных с опухолями головного мозга человека [1, 6]. Однако недавно предположение о том, что концентрация этого маркера в глиомах зависит от степени их злокачественности [7], было поставлено под сомнение [3]. Было показано, что, несмотря на то, что кислый глиальный фибриллярный белок специфичен в норме для астроцитов, он обнаруживается в значительных количествах в ряде олигодендроглиом, спонгиобластом, эпендимом, медуллобластом (опухолей неастроцитарного происхождения), характеризующихся, следовательно, «потенциалом дифференцировки по астроцитарному типу» [3].

Таким образом, вопрос о возможности использования нейроспецифических антигенов в качестве маркеров для гистологической диагностики опухолей не является разработанным в достаточной степени.

В настоящей работе проводилось количественное определение двух мембранных нейроспецифических белков в опухолях мозга человека различного гистогенеза с целью оценки возможности использования этих антигенов в качестве маркеров. Один из этих белков— D_2 является поверхностным мембранным белком нейронов, который, как полагают, относится к «молекулам клеточной адгезии» [8].

Материалы и методы

Материалом исследования служили образцы опухолей головного мозга человека, полученные при хирургических операциях в НИИ нейрохирургии МЗ УССР (Киев). Для этих опухолей была проведена гистологическая диагностика и определена степень злокачественности [9].

Навески тканей гомогенизировали с 5-ю объемами 0,025 М трисбуфера, pH 7,4, содержащим 2%-ный тритон X-100. Экстракты получали центрифугированием гомогенатов при 25000 g в течение 60 мин. Содержание белка в пробах определяли методом Lowry [10]. Получение тритонного экстракта белков мембранной фракции мозга взрослого человека и хроматографию на колонке с фенил-сефарозой осуществляли, как описано ранее [11]. Результаты хроматографии оценивали слитным ракетным и перекрестным иммуноэлектрофорезом с использованием кроличьей антисыворотки против белков фенил-сефарозной фракции мозга взрослого человека. Антисыворотку получали методом Harboe, Ingild [12].

Количественное определение нейроспецифического антигена D_2 проводили ракетным иммуноэлектрофорезом с использованием моноспецифической антисыворотки против белка D_2 фетального мозга человека, которая была любезно предоставлена проф. E. Vock (Копенгагенский университет). Количественное определение нейроспецифического мембранного антигена PS-2 осуществляли методом ракетно-линейного иммуноэлектрофореза с использованием полиспецифической антисыворот-

ки против белков фенол-сефарозной фракции мозга взрослого человека. При этом в промежуточный гель (в линию) вносили известное количество очищенного антигена PS-2, над линией помещался гель с антисывороткой, а под линией—стандарты для калибровочной кривой и образцы тритоновых экстрактов тканей опухолей [11]. В обоих случаях рассчитывали площади соответствующих пиков преципитации. В качестве стандартов использовались образцы с известным количеством соответствующих антигенов. Результаты выражали в усл. ед. в расчете на 1 мг белка экстракта, а затем—в процентах от содержания антигенов в нормальном мозгу взрослого человека.

Иммуноэлектрофорез проводили в 1%-ном агарозном геле, содержащем 0,2%-ный тритон X-100 в трис-барбиталовом буфере, pH 8,6 [11].

Результаты и обсуждение

Перекрестный иммуноэлектрофорез солюбилизированных тритоном X-100 белков мембранной фракции мозга взрослого человека после хроматографии на фенол-сефарозе выявил три основных пика преципитации. Антигены, соответствующие этим иммунопреципитатам, обозначены по степени возрастания электрофоретической подвижности PS-1, PS-2 и PS-3 (рис. 1). Использование моноспецифической антисыворотки против белка D_2 фетального мозга человека в промежуточном геле показало, что антиген PS-3—это белок D_2 мозга взрослого человека.

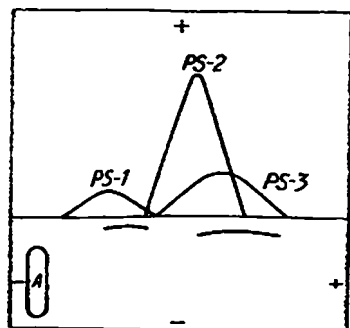


Рис. 1. Перекрестный иммуноэлектрофорез фенол-сефарозной фракции мембранных белков мозга взрослого человека.

Препарат антигенов—20 мкл (20 мкг белка) фенол-сефарозной фракции мембранных белков мозга взрослого человека. Антитела—кроличья антисыворотка против белков фенол-сефарозной фракции (14 мкл/1 см² геля)

Белок PS-2 был очищен методами аффинной хроматографии (сорбенты: фенол-сефароза, конканавалин А-сефароза, лизин-сефароза, фитогемагглютинин-сефароза). Белок PS-2 является нейроспецифическим белком, так как использование тритоновых экстрактов различных тканей человека не вызывало адсорбции соответствующих антител *in situ* (кроме ткани мозга). Очищенный препарат белка PS-2 использовали в ракетно-линейном иммуноэлектрофорезе для определения его содержания в опухолях мозга.

Результаты по количественному содержанию белка D_2 в опухолях мозга человека представлены на рис. 2 (распределение количества D_2

в зависимости от гистоструктуры опухолей) и рис. 3 (распределение D_2 по степени злокачественности и в зависимости от гистогенеза опухоли). Видно, что все опухоли нейроэктодермального происхождения содержат белок D_2 . В некоторых образцах его количество в 2—3 раза выше, чем в нормальном мозгу, что несколько неожиданно, поскольку на основании иммуноцитохимических данных [13] принято считать, что этот белок является нейрональным маркером, локализованным в пресинап-

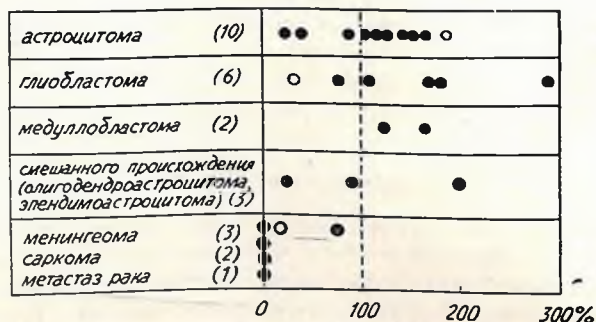


Рис. 2. Содержание нейроспецифического белка D_2 в опухолях мозга человека (в зависимости от гистоструктуры опухолей). По оси абсцисс—содержание антигена D_2 в расчете на мг белка экстракта, выраженное в % от его содержания в нормальном мозгу человека. О—образцы, для которых установлена неполная иммунохимическая идентичность антигена по сравнению со взрослым мозгом. В скобках указано число исследованных образцов



Рис. 3. Содержание нейроспецифического белка D_2 в опухолях мозга человека (распределение по степени злокачественности и в зависимости от гистогенеза). Обозначения те же, что и на рис. 2

тическом комплексе. Присутствие его в астроцитах и других глиомах указывает на то, что глиомам присущ «потенциал дифференцировки» нейронального типа, в норме отсутствующий в глиальных элементах мозга. Эти результаты интересны тем, что D_2 —это белок клеточной поверхности (у нейронов) и, по-видимому, вовлечен в процессы узнавания и

формирования клеточных контактов [8, 13]. Возможно, появление D_2 в гланомах имеет какое-то значение для их дальнейшего развития. В то же время данные, приведенные на рис. 3, указывают на отсутствие какой-либо зависимости между содержанием D_2 в опухолях и степенью их малигнизации. Опухоли соединительнотканного и эпителиального происхождения не содержали D_2 , за исключением двух менингиом. Интересно, что кислый глиальный фибриллярный белок также обнаруживается в опухолях, прорастающих из таких глиальных элементов, которые в норме этот белок не синтезируют. Иногда он обнаруживается и в менингиомах [3].

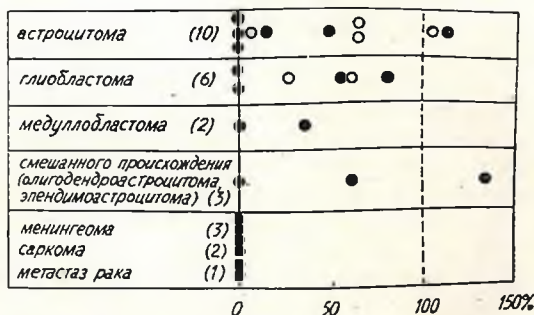


Рис. 4. Содержание нейроспецифического белка PS-2 в опухолях мозга человека (в зависимости от гистоструктуры опухолей). Обозначения те же, что и на рис. 2

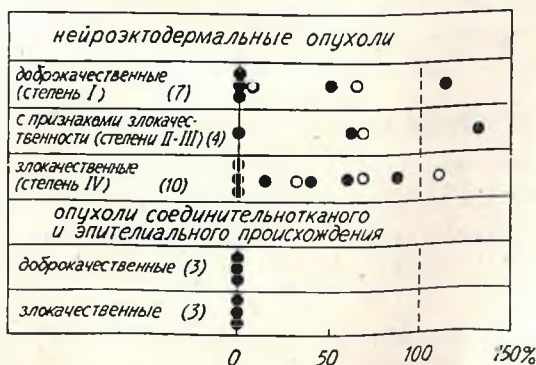


Рис. 5. Содержание нейроспецифического белка PS-2 в опухолях мозга человека (распределение по степени злокачественности и в зависимости от гистогенеза). Обозначения те же, что и на рис. 2

В трех образцах опухолей (рис. 2)—астроцитоме, глиобластоме и менингиоме—белок D_2 отличается, по-видимому, по физико-химическим свойствам от D_2 , характерного для нормального мозга взрослого чело-

века. Реакция частичной иммунохимической идентичности для этих образцов была показана при использовании метода Бок и Аксельсена [14].

Известно, что у глиом формируется собственная сосудистая сеть, характеризующаяся, по-видимому, повышенной по сравнению с капиллярами интактного мозга проницаемостью капилляров [15—18].

Поскольку D_2 обнаружен во всех исследованных образцах опухолей и показано существование растворимой его формы [19], можно предположить, что количественное определение D_2 в сыворотке будет иметь определенное значение в предоперационной диагностике опухолей мозга.

Второй мембранный антиген PS-2 отсутствует во всех изученных опухолях соединительнотканного и эпителиального происхождения (рис. 4 и 5). Он также обнаруживается не во всех опухолях нейроэктодермального происхождения. Для белка PS-2, как и для D_2 , отсутствует положительная корреляция между его содержанием и степенью злокачественности, что отмечалось и для двух других нейроспецифических белков: кислого глиального фибриллярного белка и белка S-100 [3]. Однако гораздо большее число образцов PS-2 по сравнению с D_2 содержит антиген, иммунохимически частично идентичный антигену нормального мозга (рис. 4, 5). Не выявляется также никакой связи между количеством PS-2 и гистоструктурой глиом.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что определение содержания D_2 и PS-2 в опухолях головного мозга человека позволяет дифференцировать нейроэктодермальные опухоли от соединительнотканых и эпителиальных. Однако при этом, по-видимому, нельзя получить информацию о степени злокачественности тестируемого образца. Тот факт, что нейрональный белок D_2 обнаруживается во всех опухолях глиального происхождения, свидетельствует о целесообразности изучения роли этого белка в опухолевом росте.

NEUROSPECIFIC MEMBRANE ANTIGENS IN HUMAN BRAIN TUMOURS

BEREZIN V. A., *ZHMAREVA E. N., SHAPOVAL T. I., ZHOLUD L. M.

Chair of Biophysics and Biochemistry, State University, Dnepropetrovsk,

*Research Institute of Neurosurgery, Ministry of Public Health,
Ukrainian SSR, Kiev

The distribution of two neurospecific membrane proteins- D_2 and PS-2 in human brain tumours with different histological structure, origin and rate of malignancy has been studied. The antigens D_2 and PS-2 were identified by means of crossed immunoelectrophoresis. These proteins were solubilized with Triton X-100 from adult human brain membrane fraction and purified by chromatography on phenyl-Sepharose CL 4B column. The amount of D_2 and PS-2 was determined by means of rocket and rocket-linear immunoelectrophoresis, respectively. All tumours

of neur ectodermal origin contained D₂ protein. Presence of D₂ protein in astrocytomas and other gliomas indicates that gliomas may have neuronal differentiation potential. PS-2 antigen was absent in all connective and epithelial tissue tumours tested and present not in all neuroectodermal tumors. There is no correlation between antigen content and the rate of tumour malignancy.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Wikstrand C. J., Bigner D. D. Amer. J. Pathol., 98, 517—567, 1980.
2. Di'tmann L., Axelsen N. H., Norgaard-Pedersen B., Bock E. Brit. J. Cancer, 35 135—141, 1977.
3. Rasmussen S., Bock E., Warecka K., Althage G. Brit. J. Cancer, 41, 113—116, 1980.
4. Warecka K. J. Neurol. Sci., 26, 511—516, 1975.
5. Sicra K., Phillips J. Brit. J. Cancer, 43, 105—107, 1981.
6. Eng L. F., Rubinstein L. J. J. Histochem. and Cytochem., 26, 513—522, 1978.
7. Jacque C. M., Kufas M., Poreau A., Raoul M., Collier P., Racadot J., Baumann N. J. Nat. Cancer Inst., 62, 479—483, 1979.
8. Jorgensen O. S., Delouée A., Thiery J.-P., Edelman G. M. FEBS Lett., 111, 39—42, 1980.
9. Холмский Б. С. Гистологическая диагностика опухолей центральной нервной системы, М., Медицина, 1969.
10. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr L. A., Randall R. J. J. Biol. Chem., 19, 265—275, 1951.
11. Березин В. А., Бок Э. Укр. биохим. журн., 54, 502—506, 1982.
12. Harboe N., Ingliid A. Scand. J. Immunol., 2, Suppl. 1, 161—164, 1973.
13. Jorgensen O. S., Möller M. Brain Res., 194, 419—422, 1980.
14. Бок Э., Аксельсен Н. Х.—В кн.: Руководство по количественному иммуноэлектрофорузу (под ред. Н. Аксельсена, И. Крелля, В. Бееке), с. 121—127, М., Мир, 1977.
15. Long D. M. J. Neurosurg., 32, 127—144, 1980.
16. Hirano A., Matsui T. Human Pathol., 6, 611—621, 1975.
17. Waggener J. D., Beggs J. L. Adv. Neurol., 15, 27—49, 1976.
18. Mc Lone D. G. Child's Brain, 6, 242—254, 1980.
19. Jorgensen O. S., Norgaard-Pederson B. Prenatal Diagnosis, 1, 3—6, 1981.

Поступила 14. III 1983

ДЕЙСТВИЕ ТЕТРАПЕПТИДА ТАФЦИНА НА
СИСТЕМУ ГАМК В ГОЛОВНОМ МОЗГУ КРЫС

НИКИТИНА З. С., СЫТНИНСКИЙ И. А.

НИИ физиологии им. А. А. Ухтомского ЛГУ им. А. А. Жданова,
Институт физической культуры им. П. Ф. Лесгафта, Ленинград

Интенсивное изучение регуляторных олигопептидов показало, что эти соединения обладают способностью оказывать влияние на ряд функций как периферических систем, так и головного мозга [1]. Тетрапептид тафцина (Thr-Lys-Pro-Arg) известен как фактор, стимулирующий фагоцитоз [2—4] и как противоопухолевый агент [5]. Получены также данные о действии тафцина на систему нуклеиновых кислот в лейкоцитах и фагоцитах [6, 7] и на содержание глюкозы в крови [8]. Фармакологический анализ психотропных эффектов тафцина показал, что этот пептид является эндогенным фактором, способным воздействовать на эмоционально-поведенческую сферу животных [9—11], вызывая, в частности, усиление, а затем торможение двигательной активности.

Механизмы центрального действия тафцина пока неясны. Необходимо систематическое изучение его влияния на ряд биохимических процессов в мозгу, в том числе на обмен медиаторов. В связи с этим определен интерес представляет изучение влияния тафцина на показатели системы ГАМК в головном мозгу животных.

Опыты проводили на беспородных крысах-самцах массой 150—200 г. Тафцин вводили внутривенно в физиологическом растворе в дозе 300 мкг/кг и 0,25 и 1 мкг/мл в систему *in vitro*. Поведение животных в «открытом поле» с подсчетом вертикальной и горизонтальной активностей исследовали согласно методике, разработанной Титовым и Каменским [12]. Содержание ГАМК и активность глутаматдекарбоксилазы (ГДК) определяли флуориметрически по реакции ГАМК с нингидрином [13, 14], а активность 4-аминобутират: 2 оксоглутаратамино-

* Препарат тафцина был любезно предоставлен сотрудником кафедры химии природных соединений ЛГУ Калихевич В. Н.

трансферазы (ГАМК-Т) по методу, основанному на реакции конденсации образующегося в ходе ферментативной реакции янтарного полуальдегида с 3-метил-2-бензотиазолон-2-гидразоном, спектрофотометрически [15] в гомогенате переднего мозга (ростральный септум, миндалина, часть передней комиссуры, мозолистые тела, ростральная часть стриатума) и среднего мозга (маммилярный комплекс, ствол и мост). Синапсомы выделяли по методу, предложенному Whittaker [16]. Статистическую обработку полученных результатов производили по критерию Стьюдента [17].

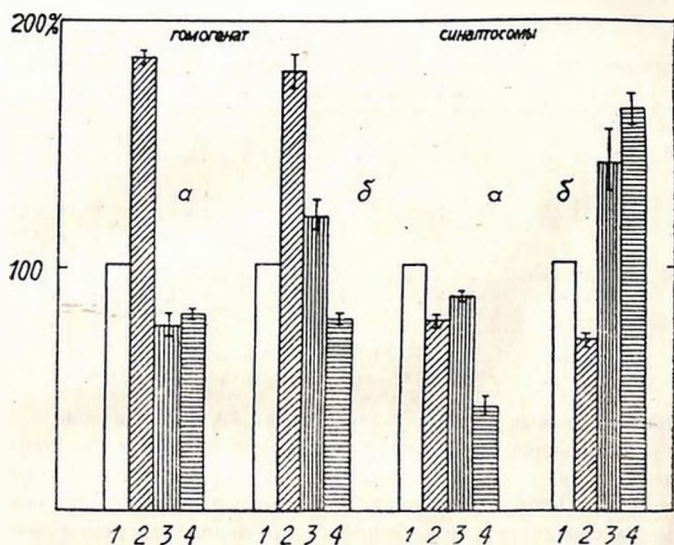


Рис. Изменение показателей системы ГАМК (в % от контроля) в гомогенате и синапсоме переднего (а) и среднего (б) мозга при внутривенном введении тафинна. 1—контроль, 2—ГАМК, 3—ГДК, 4—ГАМК-Т

Установлено, что введение тафинна (300 мкг/кг внутривенно) усиливает горизонтальную и отчасти вертикальную двигательную активность животных. Эффект обычно наступает через 5—15 мин и продолжается в течение 30 мин, сменяясь периодом седативного действия. Отмеченные сдвиги в поведении животных сопровождались изменением активности ГАМК-ергических процессов (рисунок), но выраженность и динамика этих изменений в структурах переднего и среднего мозга были различны. Содержание ГАМК в гомогенате переднего и среднего мозга резко возрастало (примерно на 80%) на фоне сниженной активности ГАМК-Т и ГДК, исключение составляло лишь увеличение активности ГДК в среднем мозгу. Отсутствие корреляции между уровнем ГАМК и активностью ГДК и ГАМК-Т может объясняться тем, что содержание ГАМК в различных отделах мозга и их субклеточных струк-

турах зависит не только от активности этих ферментов, но также связано с процессами ее транспорта.

Из данных, представленных в таблице, видно, что введение *in vitro* тафцина в дозе 0,25 мкг/мл в неочищенную фракцию синапсом, выделенных из переднего мозга, вело к снижению активности ГДК (8%) и ГАМК-Т (59%), в то время как во фракции синапсом из среднего мозга эта же доза приводила к повышению активности ферментов обмена ГАМК. Следует отметить наличие фазовой зависимости: увеличение дозы до 1 мкг/мл приводило к увеличению активности ГДК во фракции синапсом из переднего мозга и к ее снижению в синапсомах среднего мозга (таблица).

Таблица

Показатели системы ГАМК в синапсомной фракции головного мозга крыс при действии тафцина (n=5)

Отделы мозга	Условия опыта	ГАМК, мкмоль/г ткани	ГДК, мкмоль ГАМК/мг белка/ч	ГАМК-Т, мкмоль ЯПА/г ткани/ч
Передний мозг	Контроль	320±7	453±112	40±6
	Тафцин 0,25 мкг/мл	260±19*	426±22	16±6**
	1 мкг/мл	—	767±150*	25±8**
Средний мозг	Контроль	162±15	399±56	39±4
	Тафцин 0,25 мкг/мл	120±9*	560±180*	62±5**
	1 мкг/мл	—	258,0±46,5*	40±8*

Примечание. n—количество опытов. ЯПА—янтарный полуальдегид;

*p<0,05; **p<0,001—по отношению к контролю

Представленные данные указывают на то, что введение тафцина вызывает изменение двигательной активности крыс, которое сопровождается сдвигами показателей системы ГАМК в переднем и среднем мозгу (рисунок). Повышение уровня ГАМК в изученных структурах головного мозга совпадает с проявлением адаптивного действия тафцина, с введением которого во фракцию синапсом наблюдается субклеточное перераспределение ГАМК в зависимости от его дозы (таблица).

Таким образом, результаты настоящей работы свидетельствуют, что воздействие тафцина проявляется не только в стимуляции ГАМК-ергических процессов в переднем и среднем мозгу в результате активации ГАМК-рецепторов, но и обусловлено специфическим влиянием на процессы субклеточного распределения компонентов системы ГАМК.

Авторы выражают признательность акад. АМН СССР И. П. Ашмарину за предоставление темы настоящего исследования.

EFFECT OF TUFTSIN ON GABA METABOLISM IN RAT BRAIN

NIKITINA Z. S., SYTINSKY I. A.

A. A. Ukhtomsky Research Institute of Physiology of Leningrad State University, P. F. Lesgaft Institute of Physical Education, Leningrad

Administration of tetrapeptide tuftsins has led to the changes in GABA level and activities of GABA metabolizing enzymes glutamate 278

decarboxylase and GABA-aminotransferase in various parts of rat brain. The effect of tuftsin was manifested by stimulation of GABA-ergic neurons in forebrain and midbrain as a result of GABA synaptic receptor activation. Administration of tuftsin led also to redistribution of GABA amount and the activities of GABA metabolizing enzymes in rat brain subcellular fractions.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ашмарин Н. П., Ерошкин М. Ю., Косилева Т. А., Рожанец В. В. Молекуляр. биология, 12, 6, 965—979, 1978.
2. Nishioka K. Gann. Jap. J. Cancer Res., 70, 6, 845—845, 1979.
3. Bruley-Rosset M., Florentin I., Mathe G. Mol. and Cell. Biochem., 41, 112—118, 1981.
4. Najjar V. A. Natur. Funct. and Interaction Pro. 8th., Int. Congr. Reticuloendothel. Soc. Jerusalem. Part A, p. 131—147, 1980.
5. Nishioka K., Babcock G. F., Phillips J. H., Noyes R. D. Mol. and Cell. Biochem., 41, 13—18, 1981.
6. Fridkin M., Gottlieb P. Mol. and Cell. Biochem., 41, 73—97, 1981.
7. Stabinsky Y., Bar-Shavit L., Fridkin M., Goldman R. Mol. and Cell. Biochem., 30, 2, 71—77, 1980.
8. Мисиньш Н. П., Мышлякова Н. В. Тез. докл. 7-й конф. молодых ученых, с. 85, Рига, 1981.
9. Вальдман А. В., Козловская М. Н., Ашмарин Н. П., Минеева М. Ф., Анохин К. В. Бюл. эксперим. биол. и мед., 92, 7, 31—33, 1982.
10. Андреев С. М., Анохин К. В., Вальдман А. В., Галкин О. М., Калихевич В. Н., Каменский А. А., Козловская М. М., Лаорецкая Э. Ф., Чаморовская Л. Т. Докл. АН СССР, 253, 2, 498—500, 1980.
11. Каменский А. А., Антонова Л. В., Самойлова Н. А., Галкин О. М., Андреев С. М., Ашмарин Н. П. Бюл. эксперим. биол. и мед., 89, 7, 43—45, 1980.
12. Титов С. А., Каменский А. А. Журн. высш. нерв. деят-сти, 30, 4, 704—709, 1980.
13. Sutton I., Simmonds M. A. Biochem. Pharmacol., 23, 1801—1804, 1974.
14. Lowe I. P., Kobins E., Eyerman G. S. J. Neurochem., 3, 8—10, 1958.
15. Васильев В. Ю., Еремен В. П. Бюл. эксперим. биол. и мед., 66, 9, 123—126, 1963.
16. Whittaker V. P. Meth. of Neurochemistry, 2, 1—52, 1972.
17. Фишер П. А. Статистические методы исследования, М., 1958.

Поступила 8. I 1983



ИДЕНТИФИКАЦИЯ НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКОГО БЕЛКА 14-3-2 В БЕСКЛЕТОЧНОЙ БЕЛОКСИНТЕЗИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЕ

СКОБЕЛЕВА Н. А., БУХМАН В. Л., ЗАХАРЯН Р. А.,
НАЗАРЯН К. Б., КАЗАРЯН Б. А.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, Ереван

*Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского АН СССР, Москва

Изучение белков, специфичных для нервной ткани, в последнее время привлекает все большее внимание исследователей.

Выявлен ряд белков, являющихся маркерами для нейронов и глиальных элементов нервной ткани. Различные состояния НС как в норме, так и при патологии связывают с изменениями в накоплении и распределении таких белков [1, 2]. До сих пор изучение биохимических изменений в нервной ткани, в основном, ограничивалось исследованием уровня количественного и качественного составов белков в различных отделах НС. Исследование молекулярных механизмов регуляции синтеза таких белков позволит лучше понять их роль в функционировании ЦНС и решить многие проблемы современной нейробиологии. В настоящее время активно применяются молекулярно-биологические методы для изучения экспрессии генов и организации цитоскелета дифференцированных нервных клеток.

Одним из подходов для выявления различного уровня экспрессии определенных генов является изучение продуктов трансляции в бесклеточной белоксинтезирующей системе препаратов мРНК, выделенных из различных структур мозга [3]. Представляет теоретический и практический интерес экспрессии синтеза нейроспецифического белка 14-3-2 на транскрипционном и трансляционном уровне, проведение в дальнейшем клонирования гена этого белка и конструирование штамма микроорганизма—продуцента биологически активного белка 14-3-2, который, по данным ряда авторов [2, 4], может быть ценным диагностическим тестом при нейроонкологических заболеваниях.

В настоящем сообщении приведены данные о наличии среди продуктов трансляции в бесклеточной белоксинтезирующей системе из ретикулоцитов кролика белка 14-3-2, обладающего, согласно мнению ряда исследователей, энзимной активностью [5, 6].

В работе использовали мозг беспородных крыс, ^{35}S -метионин («Amersham», Англия), олиго(дТ)-целлюлозу («Biochemicals», США), аминокислоты («Calbiochem», США).

Мозг гомогенизировали в 10 объемах буфера (0,25 М сахараза, 50 мМ трис-НСl, pH 7,6, 250 мМ KCl, 5 мМ MgCl₂, 1 мМ DL-дитиотрейтола, 1 мг/мл гепарина, 0,1% диэтилпиноккарбоната) в гомогенизаторе Поттера при 0° и скорости вращения пестика 15000 об/мин. Гомогенат центрифугировали при 30000 g в течение 20 мин при 0°. Супернатант на-слаивали на 1,5 М сахаразу, приготовленную на том же буфере, исклю-чая гепарин, и центрифугировали в течение 5 ч при 0° и 200000 g. Осадок полирибосом ресуспендировали в буфере: 20 мМ трис-НСl, pH 8,0, 100 мМ NaCl, 10 мМ ЭДТА, 0,5% додецилсульфата Na, добавляли про-теиназу К до концентрации 500 мг/мл и инкубировали 50 мин при 37°. РНК депротенизировали равным объемом фенол-хлороформа до исче-зновения интерфазы и один раз хлороформом. РНК из водной фазы осаж-дали 2,5 объемами этанола.

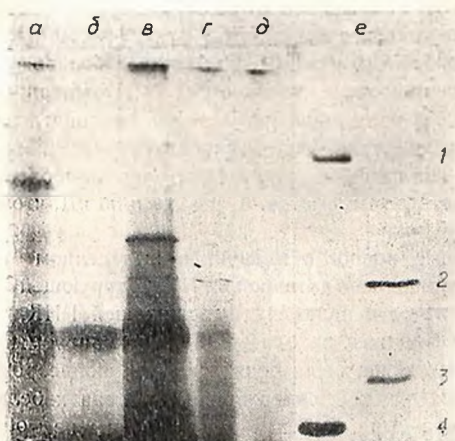


Рис. Радиоавтограмма продуктов трансляции в бесклеточной белосинтезирующей системе из ретикулоцитов кролика после электрофореза в 10%-ном ПААГ в присутствии додецилсульфата Na. α—эндогенный синтез; β—эндогенный синтез, подавленный микрококковой нуклеазой; γ—продукты трансляции поли (А) + РНК из мозга крысы после подавления эндогенного синтеза микрококковой нуклеазой. Распределение продуктов трансляции с M_r от 20 до 70 кД; δ—продукты трансляции после иммуноадсорбции антисывороткой, содержащей антитела к белку 14-3-2; ε—эндогенный синтез после иммуноадсорбции антисывороткой, содержащей антитела к белку 14-3-2 (контроль); e—белки, используемые в качестве маркеров: 1—бывший сывороточный альбумин ($M_r = 67$ кД); 2—овальбумин ($M_r = 45$ кД); 3—соевый ингибитор трипсина ($M_r = 21,5$ кД); 4—α-лактальбумин ($M_r = 14,2$ кД).

Выделение поли(А) + РНК на олиго(дТ)-целлюлозе проводили по методу Aviv, Leder [7]. Препарат поли (А) + РНК подвергали повторной хроматографии и осаждали этанолом.

Из мозга быка выделяли белок 14-3-2 и получали антисыворотку подкожной иммунизацией кроликов [8, 9]. Трансляцию проводили в бесклеточной белоксинтезирующей системе из ретикулоцитов кролика, используя в качестве меченой аминокислоты ^{35}S -метионин [3].

Иммуноадсорбцию продуктов трансляции осуществляли по методу Kessler [10], электрофорез белков в ПААГ—по методу Laemmli [11].

На рисунке представлены результаты электрофореза в 10%-ном ПААГ в присутствии додецилсульфата Na продуктов трансляции в бесклеточной белоксинтезирующей системе из ретикулоцитов кролика полисомной поли(А) + РНК, выделенной из мозга крысы. Микрококковая нуклеаза практически полностью ингибирует трансляцию эндогенных матриц, о чем свидетельствует сравнение дорожек а и б (рисунок). Поли(А) + РНК, выделенная из полирибосом мозга крысы, стимулирует трансляцию белков в ретикулоцитной системе, эндогенный синтез которой подавлен микрококковой нуклеазой (рис., в). Продукты трансляции распределены в основном в зоне M_r от 20 до 70 кД.

Как было показано ранее [12], при синтезе белков в бесклеточной белоксинтезирующей системе на поли(А) + РНК-матрице, выделенной из мозга, около 20% включившейся меченой аминокислоты приходится на долю актина и тубулина—основных белков клеточного цитоскелета. Нами получены аналогичные результаты: две наиболее интенсивные полосы на радиоавтограмме имеют M_r 45—46 и 55 кД, что соответствует M_r актина и тубулина.

Нас интересовал вопрос о наличии в выделенном препарате поли(А) + РНК функционально активной мРНК, кодирующей белок 14-3-2. Если она присутствует в поли(А) +, содержащей РНК, то среди продуктов трансляции должен находиться белок, кодируемый этой мРНК.

Для его обнаружения была проведена иммуноадсорбция продуктов трансляции антисывороткой, содержащей антитела к белку 14-3-2, выделенному из мозга быка. Так как этот белок не обладает иммунологической межвидовой специфичностью [1], мы предположили, что антисыворотка, содержащая антитела к нему, будет преципитировать белок, синтезированный по матрице мРНК, специфичной к белку 14-3-2, выделенному из мозга крысы. Действительно, антитела к бычьему белку 14-3-2 осаждают из продуктов трансляции белок с M_r 45 кД (рис., г). M_r белка 14-3-2 составляет по данным различных авторов 40—46 кД [1, 6], что соответствует величине M_r очищенного нами препарата белка 14-3-2.

Таким образом, в бесклеточной белоксинтезирующей системе на поли(А) + РНК-матрице из мозга осуществлен биосинтез нейроспецифического белка 14-3-2, что свидетельствует о наличии в выделенном

нами препараты поли(А)- РНК мРНК, специфичной к указанному белку.

Авторы благодарят проф. Л. Л. Киселева за поддержку и внимание, оказанные при выполнении данной работы.

IDENTIFICATION OF NEUROSPECIFIC PROTEIN 14-3-2 IN A CELL-FREE PROTEIN-SYNTHESIZING SYSTEM

SKOBELEVA N. A., *BUKHMAN V. L., ZAKHARYAN R. A., NAZARYAN K. B.,
KAZARYAN B. A.

Institute of Experimental Biology, Armenian SSR Academy of Sciences,
Yerevan

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, USSR Academy of
Sciences, Moscow

Total poly (A)-containing mRNA has been isolated from rat brain and translated in a cell-free rabbit reticulocytes system. A polypeptide with M_r 45 kD immunoprecipitating with antiserum to protein 14-3-2 has been detected among translation products. This fact points to the existence of mRNA for protein 14-3-2 in the total rat brain poly-(A)-containing mRNA.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Moore B. W. Adv. Neurochem., 1, 137—155, 1976.
2. Jacque C. — in: Neurol. Mut. Aff. Myel. (Baumann N. ed.) p. 305—319, Amsterdam, 1980.
3. Pelham H. B., Jackson R. J. Eur. J. Biochem., 67, 247—256, 1976.
4. Carney N. D., Ihde D. C., Cohen M. H., Marangos P. J., Bunn P. J., Guzdar A. F. Lancet, 8272, 583—585, 1982.
5. Rouds J. A., Parsons M. A. J. Pathol., 137, 37—49, 1982.
6. Marangos P. J., Zomzely-Neurath C., Jork C. Biochem. Biophys. Res. Commun., 68, 1309—1316, 1976.
7. Aviv H., Leder P. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 69, 1408—1412, 1972.
8. Назарян К. Б., Каринетян И. Г., Қазарян Б. А. Нейрохимия, 2, 174—179, 1983.
9. Grasso A., Roda G., Hogue-Angeletti R. A., Moore B. W. Brain Res., 124, 497—507, 1977.
10. Kessler A. J. Immunol., 115, 1617—1619, 1975.
11. Laemmli U. K. Nature, 227, 680—685, 1970.
12. Gozes I., Walker M. D., Kaye A. M., Littner U. Z. J. Biol. Chem., 292, 1819—1825, 1977.

Поступила 13. X 1983



УДК 612.8.015 : 547.953 : 612.273

МЕТАБОЛИЗМ ФОСФОЛИПИДОВ В СУБКЛЕТОЧНЫХ
СТРУКТУРАХ ТКАНИ МОЗГА КРЫС
ПРИ ТЯЖЕЛОЙ ГИПОКСИИ

ГАСТЕВА С. В., РАЙЗЕ Т. Е., ШАРАГИНА Л. М.

Институт физиологии им. И. П. Павлова АН СССР, Ленинград

Важная роль фосфолипидов (ФЛ), являющихся неперенными компонентами всех биологических мембран, в метаболизме и специфических функциях нервной ткани в настоящее время совершенно очевидна. Одним из условий биосинтеза ФЛ является адекватное снабжение тканей кислородом. Нарушения обмена ФЛ мозга, вызванным гипоксией, приписывается существенная роль в развитии постгипоксических поражений мозга [1]. Имеющиеся литературные данные [2—5] свидетельствуют о снижении скорости включения в ФЛ мозга различных предшественников при гипоксической гипоксии неодинаковой тяжести и продолжительности.

В цикле работ Д. А. Четверикова и соавт. [6—8] было показано, что гипоксическая гипоксия, вызванная пребыванием крыс в барокамере при давлении 319,92 гПа (гипоксия средней тяжести) или 266,60 гПа (тяжелая гипоксия), приводит к снижению скорости включения ^{32}P -ортофосфата в ФЛ гомогената больших полушарий головного мозга крыс, не изменяя при этом их содержания, аналогичная картина наблюдалась при гипоксии средней тяжести во всех субцеллюлярных фракциях мозга крыс.

Задачей настоящей работы явилось изучение содержания и интенсивности обмена фосфора ФЛ в субцеллюлярных фракциях больших полушарий головного мозга крыс при тяжелой гипоксии и сопоставление этих данных с результатами, полученными при исследовании гипоксии средней тяжести [8].

Исследования проводили на взрослых белых крысах-самках линии Вистар, которым внутривенно вводили ^{32}P -ортофосфат в дозе 0,2 ГБк/кг массы. Тяжелую гипоксическую гипоксию создавали помещением животных сразу после введения изотопа в барокамеру, где давление снижалось до 266,60 гПа. В зависимости от состояния крыс давление периодически снижали до 213,28 гПа и ниже с тем, чтобы смерт-

ность животных составляла не более 50%. Состояние крыс было очень тяжелым, наблюдались судороги, урежение дыхания. Контрольные животные находились все это время при нормальном барометрическом давлении. Через 2 ч после введения изотона контрольных и гипоксических крыс декапитировали. Субклеточное фракционирование и все процедуры по определению содержания и обмена ФЛ проводили по методикам, описанным ранее [8]. Мерой интенсивности обмена фосфора ФЛ являлась величина относительной удельной радиоактивности (ОУР), которую вычисляли как отношение (уд. радиоактивность Р ФЛ/уд. радиоактивность Р₁ гомогената) $\times 100$. Количество ФЛ выражали в мкг Р/мг белка.

Таблица

Содержание и относительная удельная радиоактивность (ОУР) фосфора фосфолипидов субклеточных фракций ткани мозга крыс в норме и при гипоксии

Фракция	Н о р м а		Т я ж е л а я г и п о к с и я			
	мкг Р/мг белка	ОУР	мкг Р/мг белка	% от нормы	ОУР	% от нормы
Микросомы	28,6 $\pm$ 1,1 (11)	2,44 $\pm$ 0,17 (4)	20,54 $\pm$ 0,57 (6) $p < 0,001$	73	2,10 $\pm$ 0,10 (5) $p > 0,05$	85
Цитозоль	3,64 $\pm$ 0,51 (10)	4,18 $\pm$ 0,34 (8)	2,68 $\pm$ 0,13 (12) $p > 0,05$	74	3,74 $\pm$ 0,20 (15) $p > 0,05$	90
Миелин	49,7 $\pm$ 1,6 (11)	0,99 $\pm$ 0,10 (8)	53,1 $\pm$ 4,6 (11) $p > 0,05$	103	0,80 $\pm$ 0,07 (6) $p > 0,05$	81
Синапсомы	18,8 $\pm$ 0,7 (10)	1,93 $\pm$ 0,17 (6)	17,3 $\pm$ 1,2 (12) $p > 0,05$	92	1,06 $\pm$ 0,10 (6) $p < 0,001$	55
Митохондрии	15,80 $\pm$ 0,83 (11)	4,28 $\pm$ 0,12 (8)	12,02 $\pm$ 0,93 (12) $p < 0,01$	76	2,57 $\pm$ 0,20 (6) $p < 0,01$	60

Примечание. В скобках указано количество опытов

Как видно из таблицы, интенсивность обмена фосфора ФЛ снижается при гипоксии во всех исследованных структурах, особенно во фракциях митохондрий и синапсом (на 40--45%). Это снижение менее выражено во фракциях микросом и цитозоля (15 и 10% соответственно), причем различия в степени снижения ОУР ФЛ митохондрий и синапсом, с одной стороны, и микросом и цитозоля, с другой, статистически достоверны. Эти данные по влиянию тяжелой гипоксии на скорость включения ^{32}P -ортофосфата в ФЛ сходны с результатами, полученными нами ранее, по влиянию гипоксии средней тяжести [8]. Наблюдаемое при тяжелой гипоксии снижение содержания ФЛ во фракциях митохондрий и микросом на 24--27% было статистически значимым, тогда как аналогичное уменьшение в цитозоле (на 26%) оказалось статистически недостоверным. При сопоставлении результатов с данными, полученными ранее при гипоксии средней тяжести, выявляются существенные различия в эффекте двух форм гипоксии на метаболизм ФЛ мозга. Гипоксия

319,92 гПа не вызывала изменения содержания ФЛ ни в одной из исследованных субцеллюлярных фракций. Следует отметить, что в литературе имеются данные по снижению содержания ФЛ в некоторых субцеллюлярных структурах ткани мозга крыс при полной его ишемии (декапитация) [9, 10]. По-видимому, тяжелая гипоксическая гипоксия оказывает на содержание ФЛ сходный эффект. Таким образом, сопоставляя влияние гипоксической гипоксии различной тяжести на метаболизм ФЛ в субцеллюлярных структурах ткани мозга, можно сказать, что при обеих формах гипоксии снижается интенсивность биосинтеза ФЛ. Однако, если при гипоксии средней тяжести (319,92 гПа), по-видимому, в равной степени снижается и интенсивность распада ФЛ, вследствие чего остается постоянным их содержание, то при тяжелой гипоксии (266,60 гПа), по-видимому, имеет место преобладание катаболических процессов над анаболическими, что и приводит к снижению содержания ФЛ в эндоплазматическом ретикулуме и митохондриях ткани мозга.

PHOSPHOLIPID METABOLISM IN BRAIN SUBCELLULAR FRACTIONS OF RATS UNDER SEVERE HYPOXIA

GASTEVA S. V., RAIZE T. E., SHARAGINA L. M.

I. P. Pavlov Institute of Physiology, USSR Academy of Sciences, Leningrad

Data are obtained on the effect of severe hypoxia (<200 mm Hg) on phospholipid (PL) turnover rate (relative specific activity) and content ($\frac{\text{mcg P PL}}{\text{mg protein}}$) in mitochondria, synaptosomes, myelin, microsomes and cytosol of rat brain. It is shown that this hypoxia reduces PL turnover rate in all subcellular fractions studied, especially in mitochondria and synaptosomes (for 40—45%). It also leads to the decrease in PL content in mitochondria and microsomes (for 24—27%).

Thus severe hypoxia in contrast to mild one (240 mm Hg), that affects only PL turnover rate, decreases both turnover rate and content of PL.

ЛИТЕРАТУРА

1. Неговский В. А., Гурвич А. М., Золотокрылина Е. С. Постграницанционная болезнь, М., Медицина, 1979.
2. Крепс Е. М., Смирнов А. А., Четвериков Д. А.—В сб.: Биохимия нервной системы (под ред. А. В. Палладина), с. 125—139, Киев, Наукова Думка, 1954.
3. Baranski S. Bull. Acad. Polon. Sci., 10, 7, 275—282, 1962.
4. Alberghina M., Giuffrida A. M. J. Neurosci. Res., 6, 3, 403—419, 1981.
5. Straszynajder J., Sun G. Neurochem. Res., 6, 767—774, 1981.
6. Четвериков Д. А.—В сб.: Проблемы нейробиологии (под ред. А. В. Палладина), с. 141—147, Л.—М., Наука, 1966.
7. Гастева С. В., Райзе Т. Е., Шарagina Л. М. Бюл. эксперим. биол. и мед., 86, 533—536, 1978.

8. Четвериков Л. А., Райзе Т. Е., Шарасина Л. М.—В кн.: Биохимия липидов и их роль в обмене веществ (под ред. С. Е. Северина), с. 155—166, М., Наука, 1981.
9. Porcellati G., De Medio G. E., Fini C., Floridi A., Goracci G., Horrocks L. A., Lazarewicz J. W., Palmerini C. A., Strusznajder J., Trobarelli G. Proc. Eur. Soc. Neurochem., 2-nd meet. ESN, 285—302, Göttingen, Weinheim, New York, 1978.
10. Bazan N. G., Aveldano de Caldironi M. J., Guisto N. M., Rodriguez de Turco E. B. Golden Jubilee Int. Congr. Essent. Fatty Acid Prostaglandins, 307—313, Univ. Minn. May 6—7, 1980. Oxford e. a., 307—313, 1982.

Поступила 29. VIII 1983

ИЗДАТЕЛЬСТВО АН АРМЯНСКОЙ ССР ГОТОВИТ К ПЕЧАТИ КНИГИ:

Современные представления о функциях мозжечка

(на русском языке; 27 л., цена 3 р. 50 к.)

В книге представлены материалы V Всесоюзного симпозиума по проблеме «Структурная и функциональная организация мозжечка», посвященного 100-летию со дня рождения академика Л. А. Орбели, изложены вопросы структурной гистохимической организации мозжечка, рассмотрены нейронные и синаптические механизмы переработки информации в мозжечке, освещены вопросы физиологических механизмов мозжечкового контроля рефлекторной деятельности организма, вопросы клинической нейрофизиологии мозжечка. Ряд статей посвящен математическому анализу и моделированию функций мозжечка. В книге значительное внимание уделено интегративной деятельности мозжечка и его роли в естественной двигательной активности.

Сборник рассчитан на широкий круг специалистов—физиологов, биологов, медиков и инженеров.

Н. П. КАЛЕТНИНА. Роль N-гликозилирования и комплексообразования аминокислот с биометаллами в повышении специфичности биологической активности (на русском языке; 1985. 12 л., тираж 3000 экз., цена 2 р.)

В монографии содержится экспериментальный материал по вопросам синтеза и физико-химических методов изучения N-гликозиламинов—веществ, образующихся *in vivo* из сахаров и аминокислот. Впервые показана возможность применения γ-резонансной спектроскопии в анализе N-гликозидов. Помимо теоретических аспектов химии и биохимии N-гликозидов, в монографии обоснован принцип N-гликозилирования лекарственных соединений как новый подход к проблеме создания эффективных и нетоксичных препаратов целенаправленного действия за счет активного транспорта углеводных фрагментов через клеточные мембраны, показана роль комплексообразования биометаллов с гликозилированными препаратами в снижении их токсического действия на организм.

Книга предназначена для специалистов в области химии и биохимии углеводов, биоорганической и бионеорганической химии, химии физиологически активных веществ, а также фармакологии, эндокринологии, морфологии и экспериментальной медицины.

8. Четвериков Л. А., Райзе Т. Е., Шаргина Л. М.—В кн.: Биохимия липидов и их роль в обмене веществ (под ред. С. Е. Северина), с. 155—166, М., Наука, 1981.
9. Porcellati G., De Medio G. E., Fini C., Floridi A., Goracci G., Horrocks L. A., Lazarewicz J. W., Palmerini C. A., Strusznajder J., Trobarelli G. Proc. Eur. Soc. Neurochem., 2-nd meet. ESN, 285—302, Göttingen, Weinheim, New York, 1978.
10. Bazan N. G., Avelando de Caldironi M. J., Guisto N. M., Rodriguez de Turco E. B. Golden Jubilee Int. Congr. Essent. Fatty Acid Prostaglandins, 307—313, Univ. Minn. May 6—7, 1980. Oxford e. a., 307—313, 1982.

Поступила 29. VIII 1983

ИЗДАТЕЛЬСТВО АН АРМЯНСКОЙ ССР ГОТОВИТ К ПЕЧАТИ КНИГИ:

Современные представления о функциях мозжечка

(на русском языке; 27 л., цена 3 р. 50 к.)

В книге представлены материалы V Всесоюзного симпозиума по проблеме «Структурная и функциональная организация мозжечка», посвященного 100-летию со дня рождения академика Л. А. Орбели, изложены вопросы структурной гистохимической организации мозжечка, рассмотрены нейронные и синаптические механизмы переработки информации в мозжечке, освещены вопросы физиологических механизмов мозжечкового контроля рефлекторной деятельности организма, вопросы клинической нейрофизиологии мозжечка. Ряд статей посвящен математическому анализу и моделированию функций мозжечка. В книге значительное внимание уделено интегративной деятельности мозжечка и его роли в естественной двигательной активности.

Сборник рассчитан на широкий круг специалистов—физиологов, биологов, медиков и инженеров.

Н. П. КАЛЕТНИНА. Роль N-гликозилирования и комплексообразования аминокислот с биометаллами в повышении специфичности биологической активности (на русском языке; 1985. 12 л., тираж 3000 экз., цена 2 р.)

В монографии содержится экспериментальный материал по вопросам синтеза и физико-химических методов изучения N-гликозиламинов—веществ, образующихся *in vivo* из сахаров и аминокислот. Впервые показана возможность применения γ-резонансной спектроскопии в анализе N-гликозидов. Помимо теоретических аспектов химии и биохимии N-гликозидов, в монографии обоснован принцип N-гликозилирования лекарственных соединений как новый подход к проблеме создания эффективных и нетоксичных препаратов целенаправленного действия за счет активного транспорта углеводных фрагментов через клеточные мембраны, показана роль комплексообразования биометаллов с гликозилированными препаратами в снижении их токсического действия на организм.

Книга предназначена для специалистов в области химии и биохимии углеводов, биоорганической и бионеорганической химии, химии физиологически активных веществ, а также фармакологии, эндокринологии, морфологии и экспериментальной медицины.



ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА И СОДЕРЖАНИЯ НЕЭСТЕРИФИЦИРОВАННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ БЕЛЫХ КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ

МАРТИКЯН А. Р., ВАРТАНЯН Г. С., КАРАГЕЗЯН К. Г.

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

Ткань мозга содержит большие количества полиненасыщенных жирных кислот с высокой степенью метаболической активности [1]. Несмотря на то, что полиненасыщенные жирные кислоты в основном эстерифицированы и входят в состав мембранных фосфолипидов, определенное количество их присутствует в свободной форме. Повышение уровня неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК) в ткани мозга описано при ряде патологических состояний организма [2].

Ранее нами были изучены жирнокислотный состав и содержание фосфолипидов мозга при экспериментальном диабете [3]. Целью настоящего исследования явилось изучение процентного состава и содержания НЭЖК головного мозга белых крыс с аллоксановым диабетом, который вызывали описанным ранее способом [4].

Выделение фракции нейтральных липидов осуществляли на колонках с силикагелем (Л 40-100, ЧССР). После метилирования диазометаном [5] фракцию НЭЖК выделяли на колонках с силикагелем с использованием в качестве элюирующей системы смесь гексана с этиловым эфиром (99:1). ГЖХ метиловых эфиров жирных кислот проводили на колонках с 8%-ным полиэтиленгликольадипинатом и 3%-ным силиконовым каучуком SE-30 на хроматографе «Gas Chrom Q» в изотермическом (180°) и градиентном (170°—240°) температурном режимах.

Для количественного подсчета содержания фракции НЭЖК в качестве внутренних стандартов были использованы невроновая и лигноцерповая кислоты [5].

Как показали результаты проведенных исследований (таблица), при аллоксановом диабете уровень НЭЖК в головном мозгу практически не изменяется (1,62 у контрольных и 1,75 мг% у диабетических животных). В жирнокислотном составе изученной липидной фракции отмечается повышение процентного содержания арахидоновой кислоты

и понижение суммы насыщенных жирных кислот, за счет чего повышается коэффициент, отражающий степень ненасыщенности изученной липидной фракции. Вопрос о функциональной роли арахидоновой кислоты в головном мозгу заслуживает специального внимания [6], благодаря ее активному участию в метаболических превращениях этого органа, где она служит, в частности, субстратом в процессах биосинтеза простагландинов. Арахидоновая кислота входит в состав большинства фосфолипидов мозга, преимущественно диацилглицеролфосфоинозитидов: высвобождение ее из них подвергается гормональной регуляции [7].

Таблица

Состав (%) и содержание (мг%) неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК) в головном мозгу белых крыс при аллоксановом диабете

Жирные кислоты	Контроль	Диабет
16:0	21,7±0,8	21,0±2,3
18:0	34,9±0,7	29,1±3,0
18:1	35,2±1,4	32,6±1,4
18:2	1,1±0,2	1,±0,6
20:4	7,2±1,1	14,9±2,1
Содержание	1,62±0,56	1,75±0,14
Сумма насыщенных жирных кислот (А)	56,60±0,51	50,10±0,69
Сумма ненасыщенных жирных кислот (В)	43,50±1,56	49,20±1,72
В/А	0,75±0,01	0,99±0,02

Примечание. * $p < 0,001$.

В литературе имеются сведения о подавлении в головном мозгу белых крыс с экспериментальным диабетом активности СДР-диацилглицерол-инозит-фосфатидилтрансферазы, ведущем к уменьшению количества фосфоинозитидов [8], считающихся важным фактором в регуляции секреторной активности островков Лангерганса [9] и выполняющих, по-видимому, определенную роль посредника в интернализации гормонального стимула инсулина в инсулинзависимых тканях [10]. Не исключено, что уменьшение содержания инозитсодержащих фосфолипидов частично обусловлено активацией соответствующих фосфолипаз [7], деацилирующих арахидоновую кислоту, играющую, по всей вероятности, определенную роль в метаболизме ткани мозга при диабете.

CONTENT AND COMPOSITION OF NONESTERIFIED FATTY ACIDS IN THE BRAIN OF RATS WITH ALLOXAN DIABETES

MARTIKIAN H. R., VARTANIAN G. S., KARAGUEZIAN K. G.

Institute of Biochemistry, Armenian SSR Academy of Sciences, Yerevan

The effect of chronic diabetes, induced by alloxan, on the content and composition of nonesterified fatty acids in brain has been investi-

gated. A marked increase in the content of free arachidonic acid has been detected, in contrast, the amount of other nonesterified fatty acids didn't change essentially.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Sun G. Y., Sun A. Y. *Biochim. et biophys. acta*, 280, 306, 1972.
2. Bašan N. G. *Neurochem.*, 18, 1979, 1971.
3. Карагезян К. Г., Вартамян Г. С., Паносян А. Г. *Нейрохимия*, 1, 139, 1982.
4. Карагезян К. Г., Вартамян Г. С., Бадалян М. Г. *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, 90, 169, 1980.
5. Кейтс М. *Техника липидологии*, М., Мир, 1975.
6. Hays B., Jacquemin C. *Biochim. et biophys. acta*, 487, 231, 1977.
7. Sun G. Y., Der O. M., Tang W. *Lipids*, 14, 229, 1979.
8. Whiting P. H., Bawley M., Sturton R. G., Pritohard P. H., Brindley D. N., Nawthorne J. N. *Biochem. J.*, 168, 147, 1977.
9. Best L., Malaisse W. J. *Biochim. et biophys. acta*, 750, 157, 1983.
10. Honeyman T. W., Strohsnitter W., Scheid C. R., Schimmel R. J. *Biochem. J.*, 213, 489, 1983.

Поступила 9. I 1984.

В издательстве «Наукова думка» в 1985 г. выйдет в свет книга:

ПОЛЯКОВА Н. М., БЕЛИК Я. В., ВЛАСЕНКО И. Н. Александр Владимирович Палладин. Документы. Фотографии. 20 л., цена 3 р. 20 к.

В книге на основе документов и фотографий описан жизненный путь Героя Социалистического Труда, лауреата Ленинской премии академика А. В. Палладина — выдающегося советского ученого-биохимика, президента АН УССР в 1946—1962 гг. Издание будет выпущено к 100-летию со дня его рождения.

Предварительные заказы на книгу принимают все магазины «Книга—почтой» и «Академкинга». Магазины издательства «Наукова думка» (252001, Киев-1, ул. Кирова, 4) и научно-технической книги № 19 (290006, Львов-6, пл. Рынок, 10) высылают книги иногородним заказчикам наложенным платежом.



УДК 612.822.1 : 615.5 : 615.9

ВЛИЯНИЕ ХЛОРОФОСА НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА

ДОЛГО-САБУРОВ В. Б., КОСМАЧЕВ А. Б., КУЛЕШОВ В. И., МАТВЕЕВ В. И.

Институт токсикологии Минздрава СССР, Ленинград

Изучение распределения фосфорорганических инсектицидов между кровью и мозгом и механизмов их проникновения через биологические барьеры представляется важным не только для понимания некоторых сторон функционирования клеточных мембран, но имеет и практический интерес в связи с необходимостью разработки способов терапии отравлений этими веществами, возникающих в ряде случаев при контакте с ними на производстве, в сельском хозяйстве, в быту. Эффективность лечебных мероприятий в значительной мере зависит от времени нахождения инсектицидов в крови. Быстрое проникновение их через ГЭБ и ингибирование холинэстераз ЦНС значительно ухудшают результаты лечения.

В настоящее время в литературе сведений о влиянии фосфоорганических инсектицидов на проницаемость ГЭБ недостаточно. В то же время имеются данные о действии других холиномиметических веществ на этот процесс. Так, Grey и Maubergu [1] обнаружили, что физостигмин стимулирует проникновение в мозг барбитуратов. Майзелис [2] показал, что галантамин значительно увеличивал проникновение ^{32}P в мозг, а в присутствии атропина, блокирующего М-холинореактивные системы организма, не оказывал существенного влияния на его накопление в мозгу. На основании этих и других данных [3] было сделано предположение о том, что центральная регуляция функции ГЭБ осуществляется с участием вегетативной НС, но холинопозитивные вещества не всегда односторонне действуют на проницаемость ГЭБ, и результат их действия во многом определяется видом применяемого индикатора проницаемости.

В задачу настоящего исследования входило изучение влияния хлорофоса на проницаемость ГЭБ у мышей.

Опыты проводили на белых мышах массой от 18 до 24 г. Хлорофос вводили в дозах 400 и 800 мг/кг, карбахоллин—0,1 и 0,5 мг/кг и галантамин—16 мг/кг. В качестве судорожных агентов применяли коразол

(100 мг/кг) и пикртоксин (10 мг/кг). Индикатором проницаемости ГЭБ служил ^3H -ДФФ (дизопропилфторфосфат) фирмы «Amersham» (Англия) с удельной радиоактивностью $6 \text{ К}_\mu/\text{ммоль}$. Доза меченого препарата составляла $25 \text{ мК}_\mu/\text{кг}$. Все препараты вводили внутримышечно одновременно с ^3H -ДФФ в разные конечности. Мышей декапитировали через различные промежутки времени (от 1 до 15 мин). Каждый эксперимент включал по 5 контрольных и опытных определений. На одно определение брали мозг (10%-ный гомогенат) и кровь у двух животных. Радиоактивность проб измеряли в стандартном диоксановом сцинтилляторе на жидкостном сцинтилляционном счетчике «Mark-3» (США). Для этого в сцинтиллятор объемом 10 мл добавляли 1 мл гомогената мозга или 0,1 мл плазмы. Мерой проницаемости ГЭБ служил индекс проницаемости, представляющий собой отношение радиоактивности гомогената мозга к радиоактивности плазмы. Статистическую обработку результатов проводили методом Стьюдента.

Таблица 1

Влияние холиномиметических средств на проницаемость ГЭБ у мышей

Исследуемый холиномиметик	Доза, мг/кг	Экспозиция, мин	Радиоактивность гомогената мозга, расп./мин/100 мг ткани	Отношение к контролю, %	Радиоактивность плазмы, расп./мин/100 мл плазмы	Отношение к контролю, %	Индекс проницаемости: радиоактивность гомогената мозга	Отношение к контролю, %
							радиоактивность плазмы	
Контроль	—	—	793±54	—	11179±958	—	1,072±0,005	—
Хлорофос	400	3	1139±51	141	11426±402	102	1,000±0,007	139
Контроль	—	—	916±57	—	10352±401	—	1,084±0,015	—
Хлорофос	800	3	1747±230	191	2935±637	27	0,49±0,16	583
Контроль	—	—	1423±57	—	11356±977	—	0,125±0,008	—
Хлорофос	80	9	2573±151	181	5719±858	50	0,52±0,10	403
Контроль	—	—	1259±48	—	9445±1090	—	0,133±0,009	—
Хлорофос	800	15	2372±128	188	4918±618	52	0,51±0,08	362
Контроль	—	—	1647±242	—	26218±3301	—	0,051±0,001	—
Карбахолин	0,1	3	1359±92	—	24494±1200	—	0,060±0,002	118
Карбахолин	0,5	3	945±38	57	11764±2205	45	0,088±0,004	172
Галантамин	16,0	3	817±54	—	8616±378	77	0,096±0,009	183

Примечание. Колебания значений радиоактивности мозга и плазмы в контроле обусловлены использованием разных партий ^3H -ДФФ; * достоверные отличия от контроля.

Меченый ^3H -ДФФ у интактных животных обладает невысокой проницаемостью через ГЭБ (табл. 1). Введение хлорофоса приводило к значительному увеличению радиоактивности гомогената мозга и снижению радиоактивности плазмы, в результате чего индекс проницаемости ГЭБ повышался. Указанные изменения, зависящие от дозы хлорофоса, наблюдали уже в первые 3 мин после его введения. В дальнейшем величина этого эффекта во времени не менялась.

Карбахолин в дозе 0,5 мг/кг (1 ЛД₅₀) уменьшал радиоактивность гомогената мозга и плазмы, а в дозе 0,1 мг/кг не влиял на нее. Галантамин в дозе 16 мг/кг (1 ЛД₅₀) уменьшал радиоактивность плазмы

(табл. 1). Судорожные агенты коразол и пикротоксин снижали радиоактивность плазмы через 3 и 15 мин после введения. Коразол, кроме того, снижал радиоактивность гомогената мозга через 3 мин после инъекции (табл. 2).

Увеличение проникновения радиоактивного индикатора в мозг мышей под влиянием хлорофоса (табл. 1) может быть следствием как прямого действия на молекулярные структуры ГЭБ, так и возбуждения холинергических систем под действием стабилизированного АХ. Однако отсутствие подобных изменений при применении других холиномиметических веществ позволяет предположить, что увеличение проникновения меченого ^3H -ДФФ в мозг не обусловлено возбуждением хлорофосом парасимпатического отдела вегетативной НС.

Таблица 2

Влияние коразола и пикротоксина на проницаемость ГЭБ у мышей

Судорожный агент	Время экспозиции, мин	Радиоактивность гомогената мозга, расч. мин 100 мг ткани	Отношение к контролю, %	Радиоактивность плазмы, расч. мин 100 мл плазмы	Отношение к контролю, %	Индекс проницаемости: радиоакт. гомогената мозга	Отношение к контролю, %
						радиоактивность плазмы	
Контроль	3	997 $\pm$ 73	—	8836 $\pm$ 660	—	0,127 $\pm$ 0,014	—
Коразол	3	698 $\pm$ 69	70	6245 $\pm$ 412	78	0,112 $\pm$ 0,009	—
Пикротоксин	3	919 $\pm$ 32	—	5638 $\pm$ 769	70	0,171 $\pm$ 0,017	—
Контроль	15	1207 $\pm$ 51	—	9917 $\pm$ 1604	—	0,142 $\pm$ 0,010	—
Коразол	15	1380 $\pm$ 80	—	4511 $\pm$ 759	45	0,323 $\pm$ 0,064	227
Пикротоксин	15	1341 $\pm$ 84	—	8454 $\pm$ 944	—	0,166 $\pm$ 0,017	—

Примечание. Обозначения те же, что и в табл. 1.

В литературе имеются данные о том, что введение животным пинакодинового эфира метилфторфосоновой кислоты увеличивает проницаемость ГЭБ для фосфолина [4]. На основании того, что судорожный агент метразол оказывает аналогичное действие, авторы делают вывод, что в механизме увеличения проницаемости ГЭБ под влиянием фосфорорганических веществ ведущее место принадлежит судорожному синдрому. Однако в наших экспериментах (табл. 1) максимальное увеличение поступления ^3H -ДФФ в мозг отмечалось в ранние сроки (3 мин) лишь после введения хлорофоса. К этому времени судороги у животных еще не развивались, а их появление при использовании такого холиномиметика, как карбахоллин, не сопровождалось увеличением проницаемости ГЭБ. Судорожные агенты коразол и пикротоксин также не увеличивали проникновения ^3H -ДФФ в мозг животных (табл. 2). Судороги, вызванные метразолом, стрихнином и метонинсульфоксимном, увеличивают проницаемость ГЭБ для $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ [5]. По-видимому, причина обнаруженных различий заключается в использовании разных индикаторов проницаемости, характеризующих различные стороны функционирования ГЭБ. Не исключено, что судорожные яды, обладая различным механизмом действия, по-разному влияют на его проницаемость.

Таким образом, введение хлорофоса сопровождается повышением проницаемости ГЭБ для радиоактивного индикатора. Одной из возможных причин увеличения проницаемости следует, по-видимому, считать прямое действие хлорофоса на биологические мембраны. Можно полагать, что изменение проницаемости ГЭБ не связано с развитием судорожного синдрома и возбуждением парасимпатического отдела вегетативной НС.

EFFECT OF CHLOROPHOS ON HEMATOENCEPHALIC BARRIER PERMEABILITY

DOLGO-SABUROV V. B., KOSMACHEV A. B., KULESHOV V. I.,
MATVEEV V. I.

Institute of Toxicology, USSR Ministry of Public Health, Leningrad

The effect of chlorophos, different cholinomimetics and convulsive agents on hematoencephalic barrier permeability for ^3H -DFP has been investigated. It was shown that chlorophos enhanced ^3H -DFP penetration into brain. Cholinomimetics and convulsive agents didn't affect this process. The supposition was made that the excitation of parasympathetic nervous system and seizures are not responsible for the changes in hematoencephalic barrier permeability under condition of chlorophos intoxication.

ЛИТЕРАТУРА

1. Grieg M. G., Mayberry T. C. J. Pharmacol. and Exp. Ther., 102, 1, 1—4 1961.
2. Майзелис М. Я. Гематоэнцефалический барьер и его регуляция, М., Медицина, 1973.
3. Кассиль Г. Н. Гематоэнцефалический барьер, М., Изд-во АН СССР, 1963.
4. Asham Y., Cuttravas G. N. Biochem. Pharmacol., 30, 18, 2593—2601, 1981.
5. Cutler R. W. P., Lorenzo A. V., Barlow Ch. F. Progress in Brain Research, 29, (Brain-barrier system), 367, 1968.

Поступила 20. I 1983



НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СИСТЕМЫ ДОФАМИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ СТАРЕНИИ

БУРЧИНСКИЙ С. Г.

НИИ геронтологии АМН СССР, Киев

Рассмотрены возрастные изменения дофаминовых рецепторов и основные механизмы их нейрохимической регуляции. Особое внимание уделено применению теории множественности дофаминовых рецепторов с целью анализа некоторых молекулярных механизмов нарушений нейромедиаторных процессов при старении и выяснению роли рецепторного звена в их происхождении.

Среди разделов современной геронтологии, наиболее интенсивно развивающихся за последние годы, важное место занимает нейробиология старения, ключевым вопросом которой является выяснение роли возрастных изменений НС в старении организма и анализ молекулярных, структурных и функциональных механизмов, ответственных за нарушение ее деятельности [1].

Изучение нейромедиаторных процессов в старости помогает понять основные закономерности старения ЦНС.

Однако до недавних пор нейромедиаторные процессы в ЦНС исследовали преимущественно на пресинаптическом уровне, в основном, уделяли внимание закономерности биосинтеза и выделения нейромедиаторов и анализу активности основных ферментов медиаторного обмена. В то же время такое важнейшее звено, как постсинаптический рецепторный аппарат, изучено недостаточно. Изменениям рецепторных структур в последнее время придается важное значение как фактору старения ЦНС [2, 3].

Регуляция нейромедиаторных рецептор-эффекторных реакций играет важнейшую роль в онтогенезе и развитии адапционно-компенсаторных реакций в ЦНС и особенно в процессах синаптической модуляции. Механизмы, ответственные за развитие рецепторных изменений, включают в себя изменение количества и свойства функционально активных рецепторов, активность аденилатциклазы (АЦ), а также систему пресинаптических ауторецепторов [4].

Система дофаминергической нейромедиации страдает при старении в первую очередь [5]. Поскольку общеизвестна роль дофамина (ДА) как нейромедиатора во многих областях головного мозга—коре, подкорковых ядрах, системе гипоталамуса—гипофиз, то естественно предположить особую роль медиаторных нарушений в дисфункции этих отделов ЦНС при старении.

В настоящее время установлен факт снижения активности при старении дофаминсинтезирующих ферментов—тирозингидроксилазы и дофаминдекарбоксилазы в различных структурах головного мозга [6, 7]. Параллельно с этим возрастает активность ферментов метаболизма катехоламинов—МАО и катехол-О-метилтрансферазы [8], а также ослабевают процессы обратного захвата медиатора [9]. Все это неоспоримо свидетельствует об ослаблении регуляторной роли ДА в ЦНС при старении. Однако истинный прогресс в изучении ДА-ергической нейромедиации стал возможен только благодаря открытию специфических рецепторов ДА в ЦНС.

Первые биохимические модели рецепторов ДА были тесно связаны с системой ДА-зависимой АЦ [10], так как в гомогенатах различных отделов головного мозга, богатых ДА, он избирательно, в отличие от изопротеренола, стимулировал синтез сАМР. Этот эффект конкурентно блокировался нейролептиками, что позволило четко локализовать основную точку приложения их действия среди катехоламиновых рецепторов [11]. В основе фармакологических и нейрохимических эффектов нейролептиков лежит, по-видимому, общий механизм—конкурентное взаимодействие с медиатором на уровне специфических рецепторов [12].

Однако многие факты заставили серьезно пересмотреть точку зрения о едином рецепторе ДА, что нашло свое отражение и в геронтологических исследованиях. Теория, согласно которой как агонисты, так и антагонисты ДА действуют на одни и те же рецепторные участки, находящиеся в различных конформационных состояниях и имеющие различную структуру в зависимости от природы агента [13], не в состоянии объяснить все имеющиеся на сегодняшний день данные. Убедительные свидетельства в пользу теории множественности рецепторов ДА, впервые сформулированной Keabian и Calne [14], получены как при анализе поведенческих реакций при применении агонистов и антагонистов ДА, так и при изучении регуляции активности ДА-зависимой АЦ, и особенно при прямом изучении рецепторов ДА с помощью радиолигандного метода.

Еще в 1973 г. Klawans [15] показал, что развитие дискинезий как осложнения при применении нейролептиков не связано с параллельным наличием или отсутствием паркинсонизма, и предположил существование двух типов рецепторов ДА, функционально не зависящих друг от друга. Это подтвердилось в опытах с использованием ряда классических и «атипичных» нейролептиков при обстоятельном анализе различных форм поведения у животных [16]. Также было установлено отсутствие прямой корреляции между способностью различных нейролептиков уг-

нестать активностью АЦ и их фармакологическим эффектом [17]. Способность нейролептиков блокировать ДА-зависимую АЦ и их клиническая эффективность коррелируют для фенотиазиновых производных, но не для бутирофенонов. Клиническая же эффективность этих нейролептиков достаточно близка, что подтверждает их действие на различные рецепторы ДА [18]. Мощный агонист рецепторов ДА—апоморфин весьма незначительно активирует АЦ, а сам ДА стимулирует ее только в достаточно больших концентрациях [16]. Отсутствие корреляции между физиологическими эффектами ДА-ергических веществ и их влиянием на АЦ позволяет утверждать, что уровень активности последней не отражает фармакологическую эффективность агонистов ДА, следовательно, его рецепторы, связанные с АЦ, должны быть отличны от участков связывания ДА, апоморфина и нейролептиков.

И, наконец, наиболее убедительные данные о наличии различных типов рецепторов ДА получены при анализе высокоаффинного связывания с использованием радиолигандного метода. В частности, обнаружены высокий уровень корреляции между способностью нейролептиков ингибировать связывание производного бутирофенона— ^3H -галоперидола и их фармакологической активностью и отсутствие связи между данной активностью и степенью ингибирования связывания ^3H -ДА [19, 20]. Данная закономерность свидетельствует о различиях в рецепторном связывании агонистов, не сводимых к конформационным взаимоотношениям в системе агонист—рецептор, а указывающих на существование, по крайней мере, двух типов рецепторов ДА [21]. Согласно Keabian, Calne [14], выделяются рецепторы ДА₁ (связанные с АЦ) и рецепторы ДА₂ (не связанные с АЦ). Рецепторы ДА₁ активируются микромолярными концентрациями ДА и блокируются такими же концентрациями нейролептиков. Рецепторы ДА₂ стимулируются также микромолярными концентрациями ДА, но блокируются пикомолярными концентрациями нейролептиков [18]. В то же время физиологическое значение каждого из выделенных типов рецепторов ДА остается неясным, хотя и в этом вопросе намечился некоторый прогресс благодаря выяснению распределения рецепторов ДА₁ и ДА₂ в различных областях ЦНС. В частности, факт отсутствия корреляции между блокадой активности АЦ нейролептиками и их фармакологическими свойствами можно объяснить, согласно Арушаняну [22], различной чувствительностью к нейролептикам разных отделов мозга. Путем применения радиолигандного метода найдено, что в гипоталамусе преобладают рецепторы ДА₁, а в стриатуме—рецепторы ДА₂ [23]. Система топографически близких, но биохимически и фармакологически различных рецепторов ДА свидетельствует о наличии сложной комплексной системы их регуляции.

Детальное изучение рецепторов ДА₁ и ДА₂ помогло выявить специфические лиганды к каждому из них, что, по существу, позволило целенаправленно изучать регуляторные аспекты взаимодействия различных веществ, влияющих на ДА-ергическую нейромедиацию, и фактически ознаменовало начало изучения рецепторных изменений в возраст-

ном аспекте. Для рецепторов DA_1 таким лигандом явился 3H -дис-флупентиксол [24], для рецепторов DA_2 — 3H -сульприд [25] и 3H -спирерон [26], для рецепторов DA_1 и DA_2 — 3H -спироперидол [27]. Основными критериями специфичности взаимодействия того или иного лиганда с рецепторами являются стереоспецифичность и эффективная концентрация, близкая к наномолярной [28].

Переходя непосредственно к характеристике возрастных изменений рецепторов DA как важнейшему звену нарушения DA -ергической медиации при старении, следует отметить, что вышеприведенный краткий анализ современных представлений о системе рецепторов DA представлялся необходимым по той причине, что приложение теории множественности рецепторов DA к процессам старения в ЦНС позволяет объяснить некоторые принципиальные вопросы, связанные с возрастными особенностями нейромедиаторного обмена.

Как основную особенность возрастных нарушений нейромедиаторных процессов следует отметить их гетерогенность [29]. При старении значительно страдает катехоламинергическая нейромедиация, и особенно DA -ергическая [29]. Выяснение механизмов возникновения нарушений DA -ергической нейромедиаторной системы, особенностей ее регуляции и адаптационных возможностей при старении, изучение рецепторов DA и их функционирование в старом организме представляют существенный интерес.

Исследования по этому вопросу проводятся в двух направлениях: 1) изучение механизмов связывания различных лигандов рецепторами DA у интактных животных разных возрастных групп и определение базальной активности АЦ; 2) изучение регуляторно-адаптационных механизмов изменений данных рецепторов и активности АЦ под влиянием различных фармакологических агентов—агонистов либо антагонистов DA , причем последнее направление является наиболее перспективным.

Чаще других в качестве маркера рецепторов DA применяется 3H -спироперидол—нейролептик из группы бутирофенонов. При старении показано уменьшение его связывания рецепторами DA в стриатуме, черной субстанции, гипоталамусе и коре головного мозга, причем на основании анализа данных по Скэтчарду большинством исследователей установлено, что этот процесс связан с уменьшением количества рецепторов без изменения их сродства [30—33], хотя имеются и данные о преимущественном снижении сродства рецепторов DA к спироперидолу и галоперидолу в стриатуме и обонятельном бугорке [34, 35]. Однако спироперидол (как и галоперидол) не является идеальным средством для анализа специфических изменений рецепторов DA , поскольку, как было упомянуто выше, он связывается как с рецепторами DA_1 , так и с DA_2 . Помимо этого, спироперидол во всех отделах мозга, кроме стриатума, связывается также и с серотониновыми рецепторами [36]. На основании полученных данных Thal и соавт. [32] делают вывод о снижении мест связывания серотонина в коре с возрастом, учитывая преимущественное сродство данного лиганда к участкам связывания серотонина в коре го-

лового мозга. Однако в стриатуме спироперидол блокирует только рецепторы ДА, что позволяет при его использовании признать достаточно убедительными только данные, полученные при изучении этого отдела головного мозга.

Большой интерес представляют исследования с использованием специфических блокаторов, в частности рецепторов ДА₂—спирерона. Misra и соавт. [37] отметили уменьшение связывания ³H-спирерона в стриатуме при старении за счет уменьшения количества участков связывания, но не сродства, что подтверждает данные большинства исследователей, полученные при использовании спироперидола, и свидетельствует о нарушении рецепторного связывания рецепторами ДА₂ в стриатуме—области ЦНС, где они являются преобладающими и, следовательно, во многом определяющими активность ДА-ергической нейромедиации в этом регионе.

С целью характеристики специфичности изменений рецепторов ДА₁ при старении чаще других используют не антагонисты, а агонист медиации ДА—³H-АДТН (2-амино-6,7-дигидрокси-1,2,3,4-тетрагидронафта-лен гидрохлорид)—избирательный агонист рецепторов ДА₁ [38]. Исследованиями с использованием данного агента показано выраженное снижение связывания АДТН в ЦНС при старении, причем значительно больше, чем спироперидола [2, 31, 32] за счет снижения количества участков связывания. По мнению Severson, Finch [31], объяснить различие в нарушении связывания АДТН и спироперидола в стриатуме при старении можно тем, что АДТН связывается в отличие от спироперидола не только пост-, но и пресинаптическими рецепторами, количество которых при старении также уменьшается, что определяет преимущественное ослабление связывания АДТН. В то же время Fuxe и соавт. [39] показали, что именно в стриатуме в отличие от других областей мозга АДТН связывается исключительно постсинаптическими рецепторами, и, следовательно, различие в связывании АДТН и спироперидола в стриатуме может объясняться только наличием двух типов постсинаптических рецепторов ДА, по-разному связывающих эти агенты. Таким образом, геронтологические исследования внесли свой вклад в пользу теории множественности рецепторов ДА. Обнаруженные факты убедительно свидетельствуют о преимущественном поражении при старении рецепторов ДА₁, связанных с АЦ.

Из приведенных данных следует очень важный в геронтологическом аспекте вывод, а именно: неоднозначные изменения рецепторов ДА₁ и ДА₂ в пределах одной анатомической области мозга могут быть ответственны за различные функциональные изменения в ЦНС при старении. В этом плане представляются весьма перспективными исследования с использованием различных ДА-ергических веществ и, в первую очередь, специфических лигандов для рецепторов ДА₁ в изучении нейромедиации в гипоталамусе, где преобладают эти рецепторы. Не исключена возможность, что разнонаправленные изменения в деятельности различных центров гипоталамуса при старении [40] в какой-то мере могут

быть обусловлены дисбалансом в активности рецепторов DA_1 и DA_2 , причем преимущественное ослабление функции рецепторов DA_1 , очевидно, играет более существенную роль.

Что касается молекулярных механизмов, лежащих в основе описанных выше изменений, то они требуют дальнейшего изучения, но уже сейчас известно, что важным фактором рецепторных изменений в старости является повышение плотности липидного слоя мембран нейронов [41]. Изменение мембранной микровязкости приводит из-за замедления реакции рецептора с каталитической субъединицей АЦ к повышению чувствительности рецепторного белка к ферментативному расщеплению, уменьшению резервного пула рецепторов и, как следствие, к снижению их количества и адаптационно-компенсаторных возможностей.

Тесно связаны с упомянутыми исследованиями и работы по изучению базальной активности DA -зависимой АЦ при старении. Отмечено снижение ее активности с возрастом у различных видов экспериментальных животных в разных отделах мозга [33, 42], хотя имеются и данные об отсутствии возрастных изменений ее базальной активности [43]. Различные результаты, полученные исследователями, вероятно, объясняются тем, что данный показатель прогрессивно снижается у крыс в возрасте от 2 до 12 месяцев, а затем почти не изменяется [44], и, следовательно, многое зависит от возраста крыс, использованных в эксперименте, то есть разница в активности DA -зависимой АЦ у 3- и 24-месячных крыс будет значительно больше, чем у 8- и 24-месячных животных. Однако исследования активности DA -зависимой АЦ представляют интерес, главным образом, при различных фармакологических воздействиях, позволяющих, используя нейрохимические подходы, подробно оценить степень сохранности ее функциональных возможностей при старении.

Суммируя изложенное о возрастных изменениях рецепторов DA , необходимо отметить следующее: 1) при старении происходит уменьшение рецепторного связывания как DA_1 , так и DA_2 типов рецепторов, очевидно, за счет уменьшения их количества без существенных изменений сродства; 2) рецепторы DA , связанные с АЦ (DA_1), претерпевают с возрастом большие изменения, чем рецепторы DA_2 .

Наиболее перспективным путем изучения рецепторов DA при старении, получившим развитие в последнее время, является метод направленного стимулирования или угнетения медиации в данной нейромедиаторной системе. Он интересен тем, что позволяет определить возрастные изменения пластичности и адаптационных свойств рецепторов, что, в свою очередь, тесно связано с общими адаптационно-компенсаторными реакциями в ЦНС при старении, являясь своего рода их индикатором, учитывая высокую степень чувствительности рецепторного аппарата даже к незначительным нарушениям нейромедиации в ЦНС [45]. С этой целью используют либо химическую денервацию DA -ергических нейронов введением 6-гидроксидофамина (6-ОН- DA)—блокатора син-

теза ДА, либо фармакологическую денервацию, вызываемую блокадой дофаминовой медиации с помощью хронического введения нейролептиков. При этом происходит функциональная перестройка деятельности нейромедиаторных систем мозга, отражающая их адаптационные пластические изменения [46]. В нейрохимии и фармакологии общепринята концепция о развитии суб- или гиперчувствительности рецепторов при их длительной активации агонистами или блокаде антагонистами [47]. При длительном воздействии нейролептики вызывают развитие гиперчувствительности и, следовательно, повышение специфического рецепторного связывания, что может служить показателем адаптационно-компенсаторных возможностей рецепторов ДА. Чаще других с этой целью в возрастных исследованиях применяют нейролептики флуфеназин (из группы фенотиазинов) и галоперидол. Использование флуфеназина с этой целью представляется особенно перспективным, так как он при длительном применении не вызывает развития толерантности, и, следовательно, картина рецепторных изменений при этом не маскируется изменениями пресинаптического звена нейромедиации [48].

При хроническом применении флуфеназина показано развитие гиперчувствительности постсинаптических рецепторов ДА, определяемое при повышении специфического связывания ^3H -спиперона—селективного блокатора рецепторов ДА₂, как у молодых, так и у старых крыс, однако менее выраженное у старых животных [45, 49]. У молодых крыс отмечается значительное увеличение мест связывания с низким сродством, в то время как у старых животных оно незначительно, хотя сродство к рецепторам не меняется. Поскольку увеличение числа рецепторных участков с низким сродством является первичной и основной адаптационной реакцией на блокаду медиации, то в старости этот первичный ответ оказывается сниженным, по крайней мере, для рецепторов ДА₂. В то же время при однократном применении галоперидола в отличие от хронического эксперимента возрастных изменений последующего рецепторного связывания у старых животных не отмечается [50]. Seeverson и соавт. [50] высказывают мнение о том, что при однократном введении галоперидол блокирует преимущественно пресинаптические рецепторы ДА, а при хроническом—постсинаптические, и, следовательно, функция первых при старении не изменяется, а последних снижена, что еще раз подчеркивает гетерогенность возрастных изменений рецепторов даже в пределах одной нейромедиаторной системы.

Представляет несомненный интерес попытка анализа сравнительной эффективности действия на рецепторы агонистов и антагонистов ДА в возрастном аспекте, проведенная Randall и соавт. [51]. Подтверждая упомянутые выше исследования о значительно сниженной в старости реакции гиперчувствительности рецепторов ДА в ответ на длительное введение нейролептиков, в частности галоперидола, авторы в то же время убедительно показывают сохранность полноценной реакции развития гипочувствительности в ответ на хроническое применение агониста ДА—бромокриптина у старых животных. Так как бромокриптин дей-

ствуется преимущественно на рецепторы ДА₂ [52], то, очевидно, их адаптационные свойства и реакция на применение агонистов сохранены при старении. Аналогичные данные получены и для β-адренорецепторов [53]. Итак, в старости ослаблены только рецепторные реакции, требующие для своего развития напряжения биосинтетических процессов, а именно—реакций гиперчувствительности, связанных с биосинтезом значительного количества новых рецепторных структур. В то же время сохранность полноценного ответа на воздействие ДА-миметиков позволяет обоснованно подходить к попыткам стимуляции ДА-ергической нейромедиации, ослабленной в старости, и открывает определенные перспективы в этих исследованиях.

Метод изучения рецепторных реакций при воздействии различными химическими агентами позволяет ответить и на вопрос, в какой степени преимущественное поражение рецепторов ДА₁, выявленное у интактных животных в старости, связано с поражением рецепторов как таковых, а в какой степени—с нарушением функции ДА-зависимой АЦ. С этой целью используется метод химической денервации введением 6-гидроксидофамина (6-ОН-ДА)—блокатора синтеза ДА, позволяющий с помощью пресинаптического воздействия влиять на постсинаптический рецепторный аппарат, не затрагивая его непосредственно. Как упомянулось выше, естественным следствием блокады медиации, в том числе и при воздействии 6-ОН-ДА, является развитие гиперчувствительности постсинаптических рецепторов. Если базальная активность АЦ при старении, как указывалось выше, снижается, то при развитии гиперчувствительности рецепторов ДА после введения 6-ОН-ДА в старости сохраняется способность ДА-зависимой АЦ к нормальной компенсаторной реакции [2, 42]. Полученные данные свидетельствуют о том, что в старости при вызванном ослаблении ДА-ергической медиации и замедленная адаптационная реакция АЦ. Это доказывает как ее полноценные регуляторные возможности при ослаблении медиации, так и то, что резко сниженное связывание рецепторами ДА₁ при старении зависит преимущественно от нарушений физико-химических свойств рецепторного белка и/или микровязкости мембраны. Но в то же время при стимуляции АЦ агонистами—ДА и апоморфином ее чувствительность у старых крыс снижена [43, 54], то есть ослаблена чувствительность фермента при прямом стимулирующем воздействии, что соответствует сниженной биосинтетической функции для всего рецептор-эффекторного комплекса, очевидно, имеющей место в старом организме. Это позволяет предположить, что при старении, по крайней мере, для ДА-зависимой АЦ, ослабление реакции на природный медиатор ДА и его агонисты в сочетании с сохранностью реакции на применение антагонистов, то есть реакции, противоположной изменению рецепторов при старении, может играть определенную роль в нарушении деятельности всей ДА-ергической системы нейромедиации. В то же время необходимо учитывать принципиально разные механизмы, регулирующие чувствительность АЦ, ко-

личество и свойства рецепторов. Изучение АЦ ни в коей мере не может заменить прямого радиолигандного анализа изменения рецепторов ДА₁ при старении. Отсутствие подобных исследований не позволяет окончательно прояснить данную проблему.

Возрастные изменения рецепторов ДА проявляются по-разному не только у различных их типов, но и в различных отделах НС. Особый интерес в этой связи представляют ДА-ергические нейроны сетчатки, используемые для сравнения с нейронами ЦНС. Эти нейроны интересны тем, что при старении рецепторное связывание в них, определяемое путем применения ³H-спироперидола, не только не ослабляется [32], но даже повышается по сравнению с молодыми животными за счет увеличения мест связывания без изменения сродства [55]. В сетчатке найдены как рецепторы ДА₁, так и ДА₂. При стимуляции дофамином АЦ в сетчатке чувствительность фермента у старых крыс также повышается по сравнению с молодыми животными [43, 54]. Объяснение данного факта вплотную приводит к ключевому вопросу изучения ДА-ергической нейромедиации при старении: какие изменения—пре- либо постсинаптические являются первичными в этой нейромедиаторной системе.

Возрастные изменения рецепторов сетчатки полностью согласуются с гипотезой о первичности пресинаптических нарушений. Следствием ослабления процессов биосинтеза и высвобождения ДА являются и повышение чувствительности рецепторов как нормальная реакция на снижение концентрации медиатора в синаптической щели и адекватный ответ со стороны аденيلاتциклазной системы.

В ЦНС же наблюдается иная, более сложная картина. С возрастом в большинстве областей головного мозга уровень катехоламинов и, в частности ДА, изменяется незначительно, уменьшаясь преимущественно в стриатуме [3]. В старости также не изменяются процессы накопления и высвобождения ДА как в норме, так и при стимуляции фенамином [56]. Снижение специфического рецепторного связывания и активности АЦ также не является нормальной реакцией на ослабление медиации в ДА-ергической системе.

Следовательно, первичным и ведущим фактором нарушений системы ДА-ергической нейромедиации в ЦНС при старении являются постсинаптические рецепторные изменения [2, 3, 56]. Следует также добавить, что механизмы регуляции рецепторного связывания являются более сложными и многообразными, чем регуляция пресинаптического звена, где основную роль играют преимущественно ферменты биосинтеза нейромедиаторов. В то же время регуляторно-адаптационные рецепторные механизмы включают в себя изменения числа рецепторов и их сродства, динамику базальной и стимулируемой АЦ, взаимодействие пре- и постсинаптических рецепторов. Если ослабление биосинтеза нейромедиаторов может быть в достаточной степени компенсировано пластическими свойствами рецепторов при их полноценной функции, как видно на примере ДА-ергических нейронов сетчатки, то первичные нарушения рецепторного аппарата в ЦНС не могут быть компенсированы даже

при нормальной активности биосинтеза медиатора, который при старении также ослаблен. Эти процессы приводят к развитию различных патологических сдвигов в старости и являются одной из причин старения ЦНС.

NEUROCHEMICAL MECHANISMS OF REGULATION OF THE DOPAMINE RECEPTORS SYSTEM ON AGING

BURCHINSKY S. G.

Institute of Gerontology, USSR Academy of Medical Sciences, Kiev

Age-dependent changes of dopamine receptors and basic mechanisms of their neurochemical regulation have been reviewed. When analysing molecular mechanisms responsible for disturbances in neurotransmitter metabolism on aging as well as elucidation of the involvement of dopamine receptors in their genesis, special attention is paid to the theory of multiplicity of dopamine receptors.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Frolkis V. V. *Experientia*, 37, 1043—1046, 1981.
2. Hirschhorn I. D., Makman M. H., Sharpless N. S. *Brain Res.*, 234, 357—368, 1982.
3. Osterburg H. H., Donahue H. G., Severson J. A., Finch C. E. *Brain Res.*, 224, 337—352, 1981.
4. Olsen R. W., Reisine T. D., Yamamura H. L. *Life Sciences*, 27, 801—808, 1980.
5. Gotteries C. G.—In: XII Intern. Congr. gerontol., Gamburg, 1. 26, 1981.
6. Анисимов В. И. *Вопросы физиол. наук*, 10, 1, 54—76, 1979.
7. Pradhan S. *Life Sci.*, 26, 1643—1656, 1980.
8. Robinson D. S. *Federat. Proc.*, 34, 103—107, 1975.
9. Jones V., Finch C. E. *Brain Res.*, 91, 197—215, 1975.
10. Kebabian J. W., Greengard R. *Science*, 174, 1346—1349, 1971.
11. Carlsson A., Lindquist M. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 20, 110—144, 1963.
12. Раевский К. С. *Вестн. Акад. мед. наук СССР*, 5, 64—69, 1982.
13. Leysen G. E., Gommeren W. J. *Neurochem.*, 36, 201—219, 1981.
14. Kebabian J. W., Calne E. B. *Nature*, 277, 93—96, 1979.
15. Klawans H. L. *The pharmacology of extrapyramidal movement disorder*. Karger, Basel, 1973.
16. Costall B., Naylor R. J. *Life Sci.*, 28, 215—219, 1981.
17. Laduron P. J. *Pharm. Pharmacol.*, 28, 250—251, 1976.
18. Seeman P. H. *Pharmacol. Rev.*, 32, 229—313, 1980.
19. Creese I., Burt D. R., Snyder S. H. *Handbook of Psychopharmacology*, 10, 37—89, 1978.
20. Seeman P., Tedesco J. L., Lee T. *Federat. Proc.*, 37, 130—136, 1978.
21. Richelson E.—In: *Neuropharmacology of CNS and behavioral disorders* (Richelson E., ed.), N. Y., p. 123—147. Academic Press, 1981.
22. Арушанян Э. Б. *Фармакология и токсикология*, 45, 5, 118—126, 1982.
23. Leibelwitz S. F., Jhangur-Unigal M., Dvorkin B., Makman M. H. *Brain Res.*, 233, 97—114, 1982.
24. Hyttel J. *Psychopharmacology*, 67, 107—112, 1980.
25. Woodruff G., Freedman S., Poat G. J. *Pharm. Pharmacol.*, 32, 802—803, 1980.
26. Madras B. K., Davis A., Chan B., Seeman P. *Progr. Neuropsychopharmacol.*, 5, 543—548, 1981.

27. Marchais D., Bouchaert I. *Biochem. Pharmacol.*, 29, 1331—1337, 1980.
28. Seeman P., Wong M., Tedesco J. *Soc. Neurosciences Abstr.*, 1, 407, 1975.
29. Samorajski T. J. *Amer. Geriatr. Soc.*, 25, 337—348, 1977.
30. Joseph J. A., Berger R. E., Engel B. T., Roth G. S. *J. Gerontol.*, 33, 643—649, 1978.
31. Severson J. A., Finch C. E. *Brain Res.*, 192, 147—162, 1980.
32. Thal L. J., Horowitz S. G., Dvorkin B., Makman M. H. *Brain Res.*, 192, 185—194, 1980.
33. Memo M., Lucchi L., Spano P., Trabucchi M. *Brain Res.*, 202, 488—492, 1980.
34. Govoni S., Spano P., Trabucchi M. *J. Pharm. Pharmacol.*, 30, 448—449, 1978.
35. Govoni S., Memo M., Saiani L., Spano P., Trabucchi M. *Mechanisms Aging, Develop.*, 12, 39—46, 1980.
36. Creese I., Snyder S. H. *Eur. J. Pharmacol.*, 49, 201—202, 1978.
37. Misra C. H., Shelat S., Smith R. C. *Life Sci.*, 27, 521—526, 1980.
38. Woodruff G. *Trends Pharmacol. Sci.*, 3, 59—61, 1982.
39. Fuxe K., Hall H., Kohler C. *Eur. J. Pharmacol.*, 58, 515—517, 1979.
40. Frolkis V. V., Bezrukov V. V. *Aging of the central nervous system*, Karger, Basel, 1979.
41. Samuel D. *Gerontologist*, 22, 5, 51—52, 1982.
42. Joseph J. A., Filburn C. R., Roth G. S. *Life Sci.*, 29, 575—584, 1981.
43. Makman M. H., Ahn H. S., Thal L. J., Sharpless N. S., Dvorkin B., Horowitz S. G., Rosenfeld M. *Brain Res.*, 192, 177—183, 1980.
44. Cubellis J. E., Joseph J. A. *Life Sci.*, 28, 1215—1218, 1981.
45. Misra C. H., Shelat H., Smith R. C. *Eur. J. Pharmacol.*, 76, 317—324, 1981.
46. Алликметс Л. X., Жарковский А. М.—В кн.: *Нейрохимические основы психотропного эффекта* (под ред. А. В. Вальмана), с. 46—52, М., 1982.
47. Вальман А. В. *Вестн. АМН СССР*, 1, 3—8, 1982.
48. Bacopoulos N. G., Bustos G., Redmond E., Roth R. H. *J. Pharmacol. and Exp. Ther.*, 221, 22—28, 1982.
49. Misra C. H., Smith R. C. *Commun. Psychopharmacol.*, 4, 411—415, 1980.
50. Severson J. A., Osterburg H. H., Finch C. E. *Neurobiol. Aging*, 2, 193—197, 1981.
51. Randall P. A., Severson J. A., Finch C. E. *J. Pharmacol. and Exp. Ther.*, 219, 695—700, 1981.
52. Beart P. M. *Trends Pharmacol. Sci.*, 3, 100—102, 1982.
53. Greenberg L. H., Weiss B. J. *Pharmacol. and Exp. Ther.*, 211, 309—316, 1979.
54. Govoni S., Loddo P., Spano P., Trabucchi M. *Brain Res.*, 138, 565—570, 1977.
55. Riccardi F., Covelli V., Spano P., Govoni S., Trabucchi M. *Neurobiol. Aging*, 2, 229—231, 1981.
56. Thompson J. M., Whitaker G. R., Joseph J. A. *Brain Res.*, 224, 436—440, 1981.

Поступила 25. I 1984



УДК 612.822.1 : 591.543.42

**НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ
ЗИМНЕЙ СПЯЧКЕ****ЭМИРБЕКОВ Э. З., ЛЬВОВА С. П.**

Проблемная лаборатория нейрoхимии Дагестанского государственного
университета им. В. И. Ленина, Махачкала

Представлен обзор литературных данных и результатов собственных исследований в области биохимических изменений в головном мозгу при зимней спячке. Особое внимание уделено белковому, азотистому, энергетическому метаболизму в динамике спячки, при подготовке к ней и пробуждении.

Угнетение жизнедеятельности при зимней спячке, сопровождающейся значительным снижением температуры тела, и последующее пробуждение, характеризующееся удивительно быстрым восстановлением температуры организма и его функциональной активности, являются уникальной моделью для изучения глубокого торможения и возбуждения ЦНС без применения грубых нефизиологических воздействий на организм [1], механизмов памяти и сложных форм поведения [2], функции липидов и клеточных мембран [3], адаптации ферментов к низким температурам и т. д.

В зимнюю спячку впадает ряд млекопитающих (хомяки, сурки, суслики, сони, летучие мыши, ежи) и некоторые виды птиц, например, перелетные американские козодои [4].

Ранее полагали, что в спячку могут впадать некоторые виды животных из-за примитивности их терморегуляции, и, следовательно, возможность перехода в спячку отражает определенную слабость механизмов физиологического контроля. Теперь же совершенно очевидно, что спячку нельзя объяснить недостаточностью терморегуляции. Напротив, это хорошо регулируемое физиологическое состояние.

В настоящее время преобладают гуморальные и нейрoхимические гипотезы спячки [5—12]. Весьма интересными и перспективными являются поиски метаболитов, играющих роль пусковых механизмов зимней спячки. Так, было показано, что во время этого процесса в крови сусликов и сурков накапливается субстанция, способная вызывать спячку и в летний период [11, 12]. Сравнительно недавно из головного мозга гибернарующих сусликов был выделен пептид «антабалон», который

существенно снижал температуру тела и обмен веществ у крыс [10]. Было высказано мнение [12], что, помимо веществ, вызывающих спячку, существуют и такие, которые ее прерывают. Изменение их соотношения вызывает разные состояния у зимоспящих. К сожалению, химическая природа этих веществ пока остается неясной.

Электрические процессы в головном мозгу зимоспящих животных, особенно в гипоталамусе, гиппокампе и других структурах лимбического комплекса, ответственных за поиск оптимального режима спячки и пробуждения, могут быть зарегистрированы даже при такой низкой температуре, как $5-6^{\circ}$ [2, 8], в то время как у незимоспящих млекопитающих «электрический ноль» для мозга не опускается ниже $17-16^{\circ}$. Следует также отметить, что ЭЭГ при зимней спячке активируется умеренными внешними воздействиями, а терморегуляция перестраивается на поддержание более низкой температуры, которая сохраняет суточный ритм. Расход энергии при этом вдвое выше, чем при холодовом гипобнозе пойкилотермных животных [6].

На снижение температуры мозга ниже определенного предела ($3-5^{\circ}$) зимоспящие реагируют увеличением теплопродукции, что препятствует дальнейшему снижению температуры мозга и либо устанавливает ее на каком-то низком, но постоянном уровне (например, 5°), либо у некоторых видов приводит к пробуждению [4, 8]. Такая хорошо регулируемая теплопродукция, несомненно, связана с наличием координации центральных нервных функций. Организующее влияние ЦНС при гипбернации проявляется также в регуляции дыхания, работы сердца, почек и многих других физиологических функций, остающихся вполне координированными, хотя и замедленными; в поддержании определенной позы, характерной для спящего животного, способности воспринимать и издавать звуки,стораживать уши и проявлять другие признаки неполной деафферентации.

Низкие температуры мозгового вещества не приводят к изменениям ультраструктуры мембран клеток нервной ткани, синаптических везикул, митохондрий в гиппокампе и коре больших полушарий мозга [2]. Лучшее, чем у незимоспящих, при низких температурах функционирует ионный градиент и транспорт через мембраны [13, 14]. Все это, безусловно, свидетельствует о том, что в тканях зимоспящих животных имеет место адаптация к действию низких температур на клеточном уровне [15].

Своеобразие мозговой деятельности—одна из главных проблем исследования зимней спячки, так как все физиологические и биохимические изменения в органах и тканях при этом физиологическом состоянии теснейшим образом связаны с функциональными и метаболическими сдвигами в головном мозгу.

Первые систематические исследования метаболизма мозга зимоспящих животных в СССР были предприняты в лаборатории А. В. Палладина (1955—1970 гг.). Было установлено, что при спячке в мозгу резко понижается интенсивность обновления суммарных белков и белков субклеточных фракций, липопротеидов, фосфопротеидов и нуклеиновых

кислот [1]. При пробуждении эти процессы существенно стимулировались. Проницаемость ГЭБ для меченых аминокислот при спячке [1] как и при искусственном охлаждении пезимоспящих и зимоспящих животных [16], сохранялась без изменения. О поддержании нормальной проницаемости ГЭБ при спячке свидетельствуют и исследования с меченым рубидием [17].

На начальных этапах зимней спячки в суммарных и водорастворимых белках мозга и на 30-е сутки в белках водонерастворимой фракции повышается отношение суммы гидрофильных аминокислот к гидрофобным [18]. Снижение гидрофобности белков мозга у зимоспящих животных указывает не только на повышение конформационной гибкости молекул, но и в какой-то степени определяет повышение их устойчивости к эндонуклеазам ткани мозга.

Обмен веществ в ткани мозга бодрствующих зимоспящих животных также имеет ряд особенностей, обусловленных, вероятно, циклической сменой тормозного и деятельного состояния НС. Например, исследование неорганической пирофосфатазы показало, что активность этого фермента в митохондриях мозга сусликов в 2,5—3 раза выше, чем у кроликов и кошек [19]. Потенциальная способность к дыханию, окислительному фосфорилированию, гликолизу и поглощению глюкозы также выше в ткани мозга зимоспящих [5]. Эти показатели существенно отличаются по сезонам.

Анаэробный гликолиз в срезах больших полушарий мозга сусликов летом оказался на 35% ниже, а дыхание и аэробный гликолиз соответственно на 24 и 70% интенсивнее, чем у крыс [20, 21]. Высокий уровень молочной кислоты свидетельствует о более низком анаэробном образовании и нарушении в мозгу других животных, способных сравнительно легко переносить глубокую гипотермию: у крыс неполовозрелых [20] и адаптированных к охлаждениям [22], а также при гипобнозе крыс [23].

Подготовка сусликов к зимней спячке сопровождается снижением в мозгу содержания макроэргических фосфатов, накоплением P_i , ослаблением фосфорилирования и эффекта Пастера [21].

Сведения об изменении энергетического метаболизма в мозгу при спячке довольно малочисленны, противоречивы и, в основном, касаются исследований дыхания. Несмотря на ряд различий, связанных с разной степенью измельчения мозга, используемыми субстратами окисления, длительностью и глубиной спячки, видом животных, большинство авторов [23—26] приходит к выводу о сохранении при зимней спячке в мозгу (особенно в среднем и продолговатом) довольно интенсивного потенциального уровня потребления кислорода (замеры при 37°). Надо, однако, отметить, что определение интенсивности того или иного процесса или ферментативной активности у гиперинирующих животных при оптимальных температурах (обычно при 37°) характеризуют лишь наличие, либо отсутствие необратимых изменений этих процессов. Более реальную картину об истинном характере изменений, наблюдающихся при зимней

спячке, дают исследования при температурах инкубации, соответствующих температуре тела гибернирующего животного.

При таком подходе оказалось, что при впадении в гибернацию при 23—24° утилизация кислорода срезами коры больших полушарий сусликов снижалась на 29%, при 1-дневной спячке (при 10°)—на 69%, а при 1-недельной спячке (при 10°)—на 78% [27]. Интенсивность анаэробного и аэробного гликолизиса в срезах коры мозга сусликов в условиях 1-недельной гибернации (при 10°) понижалась приблизительно одинаково—на 71,1 и 71,4%, а содержание молочной кислоты—на 83% [21].

Определение активности некоторых гликолитических и дыхательных ферментов (при 39°) в коре больших полушарий, стволе мозга, гиппокампе, таламусе—гипоталамусе сусликов и хомяков при зимней спячке (при 2—4°) показало, что активность цитохром-с-редуктазы и системы альдолаза-изомеразы-3-фосфоглицеринальдегиддегидрогеназы существенным изменениям не подвергалась, фосфорилазная активность увеличивалась, а цитохром-с-оксидазная активность повышалась в коре и не превосходила заметных изменений в других отделах мозга [28].

По данным Русева и Стефанова [29], активность сукцинатдегидрогеназы в больших полушариях и продолговатом мозгу гибернирующих сусликов (при 5—10°) сохранялась на уровне контроля, а в среднем мозгу увеличивалась на 42%.

С этими данными сопоставимы результаты исследований, проведенных цитохимическими методами в различных структурах мозга [2]. Найдено, что при гибернации наблюдается внутриклеточное перераспределение сукцинатдегидрогеназы и изменение ее активности. При сопоставлении этих данных с результатами электрофизиологических исследований было установлено, что максимальная ферментативная активность оказалась свойственной нейронам именно тех отделов головного мозга, которыми осуществляется наиболее напряженная функциональная деятельность в период спячки. Это относится, прежде всего, к нейронам варолиевого моста, гиппокампа и продолговатого мозга, в котором находится дыхательный центр. У зимоспящих, как известно, он очень устойчив к действию низких температур.

Интересны результаты исследования сукцинатдегидрогеназной активности митохондрий мозга нормотермических (38°) и охлажденных до 15° и 3° сусликов при разных температурах (38°, 15° и 3°) инкубации [30]. В этих опытах установлена отрицательная температурная зависимость. Так, было показано, что у сусликов, охлажденных до 3°, активность сукцинатдегидрогеназы оказалась выше при всех трех температурах инкубации, чем у других групп; самая же высокая активность оказалась в случае инкубации при 3°, которая при низкой температуре может свести к минимуму эффект гипоксии.

На основании приведенных материалов можно высказать мнение о сохранении при спячке высокой активности ряда окислительных ферментов и о достаточно высоком функционировании филогенетически древних флавинозависимых дегидрогеназных участков дыхательной це-

ли. В то же время активность более молодых участков, по-видимому, повреждается в этих условиях в большей мере, о чем свидетельствует определение активности цитохромоксидазы. При зимней спячке сусликов (при 5—10°) активность цитохромоксидазы в переднем, среднем и продолговатом мозгу понижалась соответственно в 2,2, 2,7 и 1,2 раза [29]. Дыхание мозга, особенно коры, при этом очень чувствительно к изменениям; при пробуждении эта чувствительность сильно ослабляется.

Содержание АТФ, особенно креатинфосфата, в мозгу сусликов значительно повышается при погружении в спячку, когда температура тела понижается до 23—24°, при наступившей спячке различной глубины и продолжительности и при завершившемся выходе из нее [15, 30]. Отчасти это связано с усилением фосфорилирования [21, 26]), но, главным образом, с резким понижением утилизации макроэргических фосфатов.

Одновременно с ростом содержания макроэргических фосфатов в мозгу гибернирующих сусликов повышается количество P_i . Сохранение фосфата имеет место в мозгу сусликов также при искусственной гибернации, особенно пролонгированной [32].

Поскольку количество фосфата в крови сусликов при впадении в спячку и выходе из нее (когда в мозгу его концентрация увеличивается) существенно не отличается от контроля [31], то источником фосфата, видимо, являются фосфорсодержащие соединения, имеющиеся в самом мозгу, возможно, фосфолипиды.

Фосфолипиды мозга подвергаются значительным изменениям при зимней спячке [3, 33, 34]. При гибернации сирийского хомячка в микросомной фракции мозга наблюдали увеличение степени ненасыщенности липидов [33]. При этом уменьшалось содержание холестерина и резко снижалось количество фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина. Эти изменения, хотя и незначительные, позволяют снизить температуру плавления фосфолипидов на 15°, что играет важную роль в поддержании текучести мембран в условиях зимней спячки. Увеличение же в экспериментах с гибернирующими сусликами [34, 35] и золотистыми хомячками [36]. Сходные изменения мембранных липидов мозга обнаружены у пойкилотермных позвоночных при акклимации к холоду [3]. Несомненно, указанные изменения носят адаптивный характер, поскольку способствуют поддержанию активности мембранных ферментов при низких температурах, которые без этой перестройки могли бы стать летальными [3].

Из мембранных ферментов, помимо уже отмеченной сукцинатдегидрогеназы, наиболее изучена в мозгу при зимней спячке Na^+ , K^+ -АТФазы [13, 37, 38]. Было отмечено, что при зимней спячке европейских ежей [13] Na^+ , K^+ -АТФазная активность в микросомной фракции мозга сохраняется при более низких температурах (до 1°), чем летом (до 5°). Этими же авторами установлено сохранение Na^+ , K^+ -АТФазной ак-

тивности в микросомных препаратах мозга лягушки при охлаждении до 1°. В мозгу гибернирующих хомячков Na^+ , K^+ -АТРазная активность увеличивалась [39], Na^+ , K^+ -АТРазная и Mg^{++} -АТРазная активность в синапсосах мозга гибернирующих сусликов несколько снижалась [38], а в микросомной фракции их удельная активность не менялась при 30-дневной спячке (при 5°) и значительно возрастала при 3-месячной, что авторы связывают с изменением фосфолипидного матрикса, а не белковой части фермента [37].

Процессы дыхания, и особенно гликолиза, связаны с большими затратами энергетических субстратов, прежде всего глюкозы и гликогена. Однако работ по исследованию содержания метаболизма этих соединений в мозгу зимоспящих мало. А. В. Палладиным (1956 г.) были проведены исследования интенсивности включения радиоактивного углерода в гликоген мозга сусликов при зимней спячке [40]; они показали, что метаболизм гликогена при спячке снижается. Гистохимические исследования выявили, что погружение в спячку характеризуется способностью конденсировать и, очевидно, синтезировать гликоген в нейронах ретикулярной формации, медлальных отделах таламуса [2]. В коре больших полушарий содержание гликогена при спячке также незначительно возрастает. Период наиболее интенсивного накопления гликогена в нейронах неспецифических образований ствола головного мозга совпадал по времени с генерализацией в электрограмме коры мозга «взрывной активности» и погружением в спячку, сопровождаемым истощением гликогена в коре. В клетках ретикулярной формации среднего мозга и медлальных отделах зрительного бугра его концентрация сохранялась на довольно высоком уровне.

В наших экспериментах содержание гликогена в мозгу сусликов при 3-месячной спячке (при 10°) превышало уровень контроля в 1,5 раза и при пробуждении несколько увеличивалось [41]. Сходная динамика гликогена имела место в мозгу пойкилотермных животных (лягушек и ящериц) при 1-, 3-, 5- и 6-недельном зимнем (при 2—4°) оцепенении [42, 43].

Содержание глюкозы в мозгу сусликов снижалось при погружении животных в спячку (на 34%) и оставалось примерно на этом уровне при 1-недельной и 2-месячной спячке с температурой тела 17° [15]. При углублении спячки до 10° и 5° количество глюкозы в мозгу повышалось и достигало уровня контроля, либо даже несколько превосходило его [43]. Видимо, это связано со значительным понижением утилизации глюкозы, прежде всего, в ходе гликолиза. О снижении гликолитических процессов в мозгу при зимней спячке свидетельствует определение интенсивности анаэробного и аэробного гликолизиса, а также количества молочной кислоты [15, 20]. Значительное понижение содержания лактата в мозгу имело место также при зимнем оцепенении пойкилотермных животных [42, 43].

Таким образом, в процессе зимней спячки как млекопитающих, так и пойкилотермных животных не создается ацидоза, что отчасти может быть связано с перестройкой мембран.

Мозг при гибернации, по-видимому, не испытывает недостатка в углеводных субстратах, убыль которых восполняется за счет глюконеогенеза в печени, весьма активно протекающего как во время спячки, так и во время периодических кратковременных пробуждений [45].

При зимней спячке и пробуждении в мозгу значительно изменяется содержание свободных аминокислот, аммиака, мочевины, что характеризует не только метаболические изменения самих аминокислот, но в определенной мере позволяет судить об изменении скорости синтеза и распада белков.

Систематические исследования азотистого метаболизма мозга в динамике зимней спячки начались с 1965—66 гг. в нашей лаборатории [46—48]. Одновременно появилась серия публикаций зарубежных ученых, посвященных изучению превращений некоторых аминокислот в различных структурах мозга гибернаторов [49, 50].

Наиболее хорошо изучена при спячке динамика таких функционально важных для нервной ткани аминокислот, как глутаминовая, аспарагиновая и ГАМК, а также глутамин, которые не только включаются в различные метаболические процессы, но и выполняют также медиаторные функции в ЦНС.

Установлено, что динамика азотистых метаболитов зависит от глубины и продолжительности гибернации и отличается в разных отделах мозга.

При погружении сусликов в спячку (температура тела 23—24°) содержание аммиака в переднем мозгу возрастало почти в 6 раз [47]. В то же время увеличивалась концентрация глутамин (в 2,2 раза) и ГАМК (в 1,9 раза). На 13% снижалось за счет лабильных групп содержание амидного азота в суммарных белках мозга. Содержание глутаминовой, аспарагиновой кислот и мочевины в этих условиях существенным изменениям не подвергалось.

При 1-недельной и 2-месячной спячке со сравнительно высокой (16—17°) температурой тела концентрация аммиака была выше нормы соответственно в 1,4 и 1,7 раза. Аналогично изменялось содержание глутамин. Значительно понижалась в этих условиях концентрация аспарагиновой и глутаминовой кислот, а при 2-месячной спячке — и ГАМК. В мозжечке содержание ГАМК было в 2—3 раза выше, чем в контроле.

При углублении гибернации до температуры тела 11—10° содержание аммиака по-прежнему оставалось в 1,5—2 раза выше его величины у бодрствующих животных. Концентрация глутамин повышалась в 2 раза при 1-недельной спячке и возвращалась к норме при 2-месячной. Аналогичным образом в динамике глубокой спячки изменялось содержание ГАМК. Значительно понижался уровень мочевины. Концентрация же глутаминовой кислоты не подвергалась существенным изменениям.

Содержание амидных групп в белках переднего мозга сусликов как при спячке с температурой тела 17°, так и при 11—10° несколько понижалось: при 1-недельной гибернации главным образом за счет прочно связанных амидных групп, а при 2-месячной — за счет лабильных [47].

Большое внимание привлекают результаты исследования содержания аспарагиновой, глутаминовой кислот, ГАМК и глутаминна в различных отделах мозга европейских сусликов при зимней спячке с температурой тела 5° [49]. Эти данные показывают, что содержание аспарагиновой кислоты во всех исследованных структурах мозга понижалось в равной мере—на 20—30%; содержание глутаминна существенно не менялось; количество глутаминовой кислоты несколько понижалось в лобной доле переднего мозга и в гипоталамусе, а ГАМК, напротив, увеличивалось. Особый интерес представляет тот факт, что наибольшие изменения количества ГАМК обнаружены [50] в тех структурах мозга (ствол мозга, промежуточный мозг), которые, как полагают, ответственны за смену нормо- и гипотермических состояний.

Снижение количества аспарагиновой и глутаминовой кислот и значительное нарастание содержания ГАМК, мочевины и глутаминна отмечено также при зимней спячке (при $8-14^{\circ}$) у хомячков [51] и ежей [52]. Увеличение содержания ГАМК при спячке и снижение при этом количества глутаминовой кислоты согласуются с данными о повышении активности декарбоксилазы глутаминовой кислоты в мозгу гибернирующих животных [53].

При анализе полученных материалов видно, что в изменении азотистых метаболитов мозга при зимней спячке прослеживается определенное сходство с изменениями, наблюдаемыми в мозгу адаптированных к холоду и многократным охлаждениям крыс [47, 54], а также при искусственной гипотермии зимоспящих животных [47]. Это сходство заключается в значительном увеличении в мозгу содержания аммиака, повышенном, либо неизменном, количестве глутаминна и в отсутствии значительных изменений содержания амидного азота в белках мозга.

При пробуждении от зимней спячки в мозгу сусликов наблюдали нормализацию содержания аспарагиновой кислоты, ГАМК и тенденцию к нормализации количества мочевины [47]. Содержание глутаминна и глутаминовой кислоты не претерпевало значительных изменений. Количество аммиака при пробуждении несколько повышалось по сравнению с гибернирующими животными, а содержание амидных групп белков мозга, напротив, понижалось за счет прочносвязанных амидных групп.

Исследование активности ряда ферментов, участвующих в метаболизме глутаминовой кислоты (глутаминназы, глутаматдекарбоксилазы, глутаминсинтетазы), а также аламин- и аспаратаминотрансфераз, стоящих на стыке азотистого и углеводного метаболизма, показало, что активность этих ферментов в мозгу при спячке изменялась в зависимости от глубины и продолжительности гибернации, но в общем сохранялась на довольно высоком уровне [55—58]. Так, глутаматдекарбоксилазная активность в больших полушариях мозга при 37° в период 1-, 7- и 30-дневной гибернации (при $6-8^{\circ}$) сусликов была соответственно в 1,7; 2,6; 1,5 раза выше, чем у бодрствующих животных [56]. Активность активируемой фосфатом и фосфатнезависимой глутаминназы в этих экспериментах повышалась на 7-й день зимней спячки и незначительно

снижалась после 1-месячной гибернации. Глутаминсинтетазная активность в отделах мозга сусликов при 1-недельной спячке (при 10—11°) снижалась примерно на 25—30% [48].

Аланин- и аспаратаминотрансферазная активность в больших полушариях, среднем и промежуточном мозгу, мозжечке сохранялась при гибернации на высоком уровне [48, 55]. Поддержание высокой активности аминотрансфераз мозга сусликов при зимней спячке и усиление этой активности в момент погружения в спячку и выхода из нее [57] обеспечивают возможность включения избытка аминокислот в цикл Кребса, и наоборот.

Зимняя спячка не влияет на температурную зависимость глутаминназной, глутаматдекарбоксилазной и аминотрансферазной активностей мозга сусликов в отличие от искусственной гипотермии (30 и 20°), при которой для глутаминазы на графиках Аррениуса отмечено появление отрицательной температурной зависимости [56, 59]. У крыс такая аномалия обнаружена в области температуры 20—30°, а у сусликов — при 10—20°.

Результаты определения активности глутаминазы из мозга охлажденных животных по мере очистки от липидов и других низкомолекулярных соединений [59] позволяют предположить, что обнаруженные нами сдвиги температурной зависимости в диапазоне 20—30° были обусловлены изменениями физико-химических свойств фермента. В то же время подобных изменений свойств глутаминазы при зимней спячке не наблюдается. Это различие между искусственной и физиологической гипотермией, видимо, является принципиальным.

Таким образом, система освобождения и связывания аммиака в мозгу зимоспящих животных проявляет большую лабильность и высокую активность при низких температурах. Это, очевидно, входит в эволюционно сложившийся механизм биохимической адаптации к низким температурам тела во время зимней спячки.

Адаптационные изменения в мозгу при спячке должны быть в значительной мере связаны с поддержанием при низких температурах определенного уровня нейромедиаторов, необходимого для осуществления синаптических процессов.

При гибернации существенно изменяется, помимо ряда аминокислот-нейромедиаторов, и содержание биогенных аминов. Катехоламины и серотонин могут выступать как активные регуляторы, участвующие в механизмах возникновения зимней спячки, ее поддержания и пробуждения [7, 60—65].

В опытах с краснощековыми сусликами было установлено, что погружение в зимнюю спячку и выход из нее сопровождаются значительными изменениями количества серотонина в различных отделах мозга [7]. В гиппокампе нарастание содержания серотонина было отмечено уже осенью, до впадения в спячку. Возникновение зимней спячки, когда температура тела животных понижалась до 15—16°, но сон еще был неглубоким, сопровождалось повышением содержания серотонина в гиппо-

кампе и заднем мозгу. В гипоталамусе, среднем и промежуточном мозгу при этом была обнаружена тенденция к повышению количества серотонина, в больших полушариях и мозжечке отсутствовали существенные изменения в его концентрации. С понижением температуры тела до 9—11° возрастание количества серотонина в мозгу усиливалось, оно повышалось и в гипоталамусе, и в среднем мозгу. При пробуждении животных от зимней спячки динамика количества серотонина имела противоположную направленность. Введение серотонина и его аналогов препятствовало выходу животных из спячки [62]. Установлено, что серотонин ингибирует сократительный термогенез и понижает потребление кислорода [61], что, по-видимому, является существенным механизмом в возникновении гипотермии при впадении в спячку. Повышение концентрации серотонина при впадении в спячку отмечено также в стволе мозга золотистых хомячков [63].

Содержание катехоламинов (норадреналина и адреналина) при зимней спячке понижается в мозгу на 20—35% [60—64].

По нашим данным, при кратковременной (1 и 2 недели) непрерывной спячке в гипоталамусе имело место увеличение содержания серотонина и адреналина при отсутствии достоверных изменений количества норадреналина и дофамина. При удлинении спячки до 4—5 недель в гипоталамусе увеличивалось также содержание дофамина [65].

В механизме зимней спячки, видимо, важную роль играет не только абсолютное содержание катехоламинов и серотонина, но и их соотношение и перераспределение в ходе спячки в различных структурах мозга. Показано, что отношение катехоламинов к серотонину понижалось на начальных этапах спячки и начинало расти по мере ее удлинения до периодов, близких к пробуждению [65].

Пробуждение сопровождалось снижением количества серотонина и повышением содержания катехоламинов в мозгу. Так, при пробуждении сусликов содержание норадреналина в гипоталамусе превышало его количество у гибернирующих животных в 1,5 раза [64]. Активность МАО, определенная гистохимическими методами, при пробуждении возрастала [2]. Возможно, что окончательное пробуждение в значительной мере связано с мобилизацией эндогенного адреналина [2].

По-видимому, при погружении в спячку наибольшее значение имеет предполагаемая функциональная перестройка центра терморегуляции, а при пробуждении—активация симпатической НС. Зимнюю спячку нельзя связать с функцией какой-либо одной системы: по-видимому, существенно то, что зимоспящие животные и при низких температурах тела сохраняют интеграцию всех систем организма.

В настоящее время не представляется возможным сформулировать строгую концепцию механизмов гибернации. Особенно много пробелов имеется в вопросе о пусковых механизмах погружения в спячку и выхода из нее. Вместе с тем описанные выше некоторые нейрохимические процессы при этих функциональных состояниях, по нашему мнению, могут явиться основанием для дальнейшей разработки механизмов физиологической адаптации к низким температурам.

NEUROCHEMICAL CHANGES DURING HIBERNATION

EMIRBEKOV E. Z., LVOVA S. P.

Laboratory of Neurochemistry, Daghestan State University, Makhachkala

The paper reviews literature data and the results of longterm personal investigations in the field of biochemical changes in brain during hibernation.

Particular attention is paid to the study of protein, nitrogen and carbon-phosphorus metabolism at different stages of hibernation: during the period of preparation for it and the period of waking up.

ЛИТЕРАТУРА

1. Палладин А. В., Белик Я. В., Полякова Н. М. Белки головного мозга и их обмен. Киев, Наукова думка, 1972.
2. Штарк М. Б. Мозг зимнеящих. Новосибирск, Наука, 1970.
3. Крепс Е. М. Липиды клеточных мембран. Л., Наука, 1981.
4. Шмидт-Нильсон К. Физиология животных (приспособление и среда). М., Мир, 1982.
5. Kayser Ch. Hedgölander's Meersuntersuch, 9, 158—183, 1964.
6. Kayser Ch. Hibernation as an adaptation: XXV Intern. Congr. of physiol. sci. 62—63. Munich, 8, 1971.
7. Кудрявцева Н. Н., Попова Н. К. Бюл. эксперим. биол. и мед., 4, 44—47, 1973.
8. Lyman C. P., Willis J. S., Malan A., Mang L. C. Hibernation and torpid in mammalian and Birds, 317 p., N. Y. Academic Press, 1952.
9. Catter V. G., Folk G. E. Comp. Biochem. and Physiol., 63A, 7—13, 1979.
10. Swan H., Schatte C. Science, 195, 84—85, 1977.
11. Dawe A. R., Spurrier W. A. Science, 163, 293—299, 1968.
12. Dawe A. R., Spurrier W. A. Crtiobiology, 9, 163—172, 1972.
13. Bowler K., Duncan C. J. Physiol., Zool., 42, 2, 211—219, 1969.
14. Saarikoski J. Suomalais. tiedekat. toimituks., Ser. A. IV, 165, 1—15, 1970.
15. Эмирбеков Э. З., Львова С. П. Успехи соврем. биол., 70, 5, 276—285, 1970.
16. Emirbekov E. Z., Sershen H., Lajtha A. Brain Res., 125, 7, 187—191, 1977.
17. Wells L. A. Comp. Biochem. and Physiol., 42A, 551—557, 1972.
18. Абдуллаев Р. А. Тезисы докладов Всесоюз. конф. «Важнейшие теоретические и практические проблемы терморегуляции», с. 153, Новосибирск, 1982.
19. Тюленев В. И., Белик Я. В. Журн. эволюц. биохимии и физиологии, 6, 25—29, 1970.
20. Львова С. П. Укр. биохим. журн., 44, 619—623, 1972.
21. Львова С. П.—В сб.: Функционально-структурные основы системной деятельности и механизмы пластичности мозга, с. 134—136, М., Ин-т мозга АН СССР, 1973.
22. Векслер Я. И., Гершеневич Э. С., Атабегова Н. Г., Готлобер И. В. Материалы 4-й Всесоюз. конф. по биохимии нервной системы, с. 21—22, Тарту, 1966.
23. Гаевская М. С. Патол. физиологич. и эксперим. терапия, 13, 4, 62—66, 1969.
24. Нечипоренко Э. Ю. Укр. биохим. журн., 18, 77—86, 1946.
25. Шулицкая Н. М.—В сб.: Регуляция вегетативных функций, с. 101—104, Киев, 1965.
26. Vincendon G., Bidet R., Jund P., Kayser Ch. Bull. Soc. Chim. Biol., 47, 5, 929—944, 1965.
27. Львова С. П. Укр. биохим. журн., 44, 169—172, 1972.
28. Mokrash L. C., Grady H. J. Compar. Neurochem., p. 213—223, Oxford—London—New York—Paris, Pergamon Press, 1964.
29. Русев Г., Стефанов Ст. Годовник на Софийския ун-т, 61, 1, 197—208, 1968.

30. Stewart L. S., Zimny M. L., West H. J. *Neurochem.*, 17, 285—287, 1970.
31. Львова С. П. *Бюл. науки*, 12, 49—52, 1972.
32. Эмирбеков Э. З., Львова С. П., Османова Р. Р. *Бюл. науки*, 6, 135—136, 1977.
33. Goldman S. S. *Amer. J. Physiol.*, 228, 834—838, 1975.
34. Aloia R. C. *J. Therm. Biol.*, 4, 3, 223—231, 1979.
35. Aloia R. C. *Recherche*, 128, 1376—1383, 1981.
36. Blaker W. D., Moscatelli E. A. *J. Neurochem.*, 31, 1513—1518, 1978.
37. Chornack J. S., Simonson L. P. *Comp. Biochem. and Physiol.*, B 59, 3, 223—229, 1978.
38. Высочина Т. К. *Журн. эволюц. биохимии и физиологии*, 13, 506—507, 1977.
39. Goldman S. S., Willis J. S. *Criobiology*, 10, 3, 218—224, 1973.
40. Паладин А. В. *Журн. высш. нерв. деят-сти*, 6, 1, 8—21, 1956.
41. Львова С. П. Тезисы докладов Всесоюз. симпозиума «Механизмы пластичности мозга при физиологических и патологических воздействиях», с. 8—9, Махачкала, 1982.
42. Львова С. П. *Укр. биохим. журн.*, 50, 744—748, 1978.
43. Львова С. П. *Журн. эволюц. биохимии и физиологии*, 16, 524—527, 1980.
44. Львова С. П., Назаревич Л. А. *Укр. биохим. журн.*, 48, 563—567, 1976.
45. Galster W., Morrison D. R. *Amer. J. Physiol.*, 228, 325—330, 1975.
46. Эмирбеков Э. З. *Бюл. науки*, 11, 53—55, 1967.
47. Эмирбеков Э. З. Азотистый метаболизм мозга при гипотермии и зимней спячке, Махачкала, 1969.
48. Эмирбеков Э. З., Мукайлов М. И. *Бюл. науки*, 2, 38—39, 1971.
49. Kržalic L., Ćupić D., Mihailović L. *Arch. Intern. Physiol. biochem.*, 73, 5, 817—825, 1965.
50. Mihailović L. T., Kržalic L., Ćupić D. *Experimentia*, 21, 709—710, 1965.
51. Гершеневич З. С., Кричевская А. А., Шугалей В. С. Материалы II Всесоюз. конф. по теоретическим проблемам действия низких температур на организм, с. 181—183, Ленинград, 1969.
52. Al-Bardy K. S., Taha Hoda M. *Comp. Biochem. and Physiol.*, A72, 3, 541—547, 1982.
53. Robinson J. D., Bradley R. M. *Nature*, 197, 4865, 369—390, 1963.
54. Эмирбеков Э. З., Тонанакина Г. П. *Бюл. науки*, 3, 24—26, 1976.
55. Даудова Т. Н. Материалы IV Всесоюз. конф. по теоретическим и практическим проблемам действия низких температур на организм, с. 58—60, Л., 1975.
56. Исмаилов И. А., Эмирбеков Э. З. *Укр. биохим. журн.*, 52, 682—688, 1980.
57. Эмирбеков Э. З. Функциональная нейрохимия, 126с., Махачкала, 1980.
58. Эмирбеков Э. З. Материалы Всесоюз. симпозиума «Механизмы пластичности мозга при функциональных и патологических воздействиях», с. 187—189, Махачкала, 1982.
59. Эмирбеков Э. З., Мейланов Н. С. *Биохимия*, 47, 9, 1466—1470, 1982.
60. Uuspay V. D. *Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.*, 41, 3, 340—348, 1963.
61. Попова Н. К. Тезисы докладов Всесоюз. конф. «Важнейшие теоретические и практические проблемы терморегуляции», с. 144, Новосибирск, 1982.
62. Кудрявцева Н. Н., Лапин И. П., Попова Н. К. Тезисы докладов Всесоюз. конф. «Важнейшие теоретические и практические проблемы терморегуляции», с. 145, Новосибирск, 1982.
63. Novotná R., Jansky L., Drahoš Z. *Cen. Pharmacol.*, 6, 23—26, 1975.
64. Feist D. D., Galster W. A. *Comp. Biochem. Physiol.*, 48A, 653—662, 1974.
65. Эмирбеков Э. З., Абдуллаев Р. А., Ибрагимов Н. И. *Укр. биохим. журн.*, 52, 418—422, 1980.

Поступила 14. VII 1983



ХРОНИКА

МЕЖДУНАРОДНЫЙ СИМПОЗИУМ ПО ЦЕНТРАЛЬНЫМ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИМ ЭНДОРФИНАМ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ И КЛИНИЧЕСКИЙ АСПЕКТЫ)

6—8 октября 1983 г. в Италии (г. Винареджо) состоялся Международный симпозиум по центральным и периферическим эндорфинам, организованный Отделом фармакологии Миланского университета и Институтом акушерства и гинекологии Моденского университета. В состав оргкомитета входили проф. *P. Mantegazza* и *E. E. Müller* (Милан) и проф. *A. R. Genazzani* и *P. Marrama* (Модена). Работа этого симпозиума протекала в рамках первого международного собрания итальянского эндокринологического общества, посвященного современным достижениям в изучении опиатов, состоявшегося 3—5 октября во Флоренции.

В симпозиуме принимали участие фармакологи, биохимики, физиологи и клиницисты из 16 стран—Италии, США, СССР, Великобритании, ФРГ, Нидерландов, Японии и других; общее число участников составило 289 человек. На симпозиуме были представлены 21 симпозиальный доклад ведущих специалистов в области эндорфинов и 60 кратких сообщений. Тезисы всех докладов были опубликованы к началу работы симпозиума на английском языке в издании *Fidia Recherche Series Frontiers in Neuroscience, Abstract book № 5*, ed. by *A. R. Genazzani* and *E. E. Müller*.

В программу симпозиума были включены 4 раздела, посвященные различным аспектам изучения эндорфинов: 1) анатомия, химия и биохимия эндорфинов; 2) физиология и фармакология; 3) патофизиология и 4) клинические аспекты. Симпозиальные доклады обсуждались на общих заседаниях, краткие сообщения—на секционных.

На заседаниях, посвященных вопросам анатомии, химии и биохимии эндорфинов, были заслушаны 3 симпозиальных доклада и 6 кратких сообщений. В докладе *T. Hökfelt* и соавт. (Швеция) были представлены материалы по центральной и периферической локализации эндорфинов. Приведены результаты иммуногистохимических исследований распределения энкефалинов, β -эндорфина и динарфина в головном мозгу, превертебральных ганглиях и желудочно-кишечном тракте животных. Показано сходство в распределении динарфинной и энкефалино-

вых иммунореактивностей, несмотря на раздельную локализацию этих систем. В поведенческих эффектах динорфина выявлено его взаимодействие с дофаминергической системой мозга. Доклад *C. H. Li* (США) был посвящен химическим и биологическим исследованиям β -эндорфина. Приведены данные о сходстве структуры и происхождения эндорфинов у разных животных и человека. Рассмотрены свойства многих синтезированных аналогов β -эндорфина. Подчеркнуто наличие среди них веществ с антагонистическим действием, что важно для синтеза опиоидов с направленным влиянием на определенные рецепторы. *M. Chrétien* и *N. G. Seidah* (Канада) рассмотрели вопрос об экспрессии генов эндорфина, подчеркнув, что превращение всех про-молекул в конечный активный продукт происходит по сходной схеме.

В кратких сообщениях были представлены данные о новом эндогенном опиоидном пептиде с высокой активностью, названном *Leu-морфином* (*K. Nakao*, Япония), о высокой аффинности к *Leu*- и *Met*-энкефалинам области зубчатой фасции гиппокампа (*A. G. Sadile* и *A. Cerbone*, Италия). В докладах *R. Simantov* и соавт. (Израиль) и *C. B. Pert* и соавт. (США) рассмотрены вопросы регуляции опиатных рецепторов. *A. Herz* (ФРГ) представил данные о гетерогенности рецепторов к опиоидным пептидам. *E. Di Benedetto* и соавт. (Италия) показали на инкубированных срезах щитовидной железы человека β -эндорфинную иммунореактивность при некоторых формах ее патологии.

На заседаниях по физиологии и фармакологии эндорфинов было представлено 5 симпозиальных докладов и 26 кратких сообщений. Доклад *E. Costa* (США) был посвящен анализу взаимодействия эндорфинов с нейромедиаторами. Рассмотрены четыре основных пути этого взаимодействия. В докладе *H. Imura* (Япония) были представлены данные о наличии эндорфинов и энкефалинов в ЦНС и цереброспинальной жидкости. Радионуклеиновым методом в сочетании с жидкостной хроматографией выявлен характер их распределения в головном мозгу. При анализе субклеточного распределения отмечено преимущественное нахождение опиоидных пептидов в синаптических фракциях, что указывает на их трансмисмиттерную или нейромодуляторную роль. *A. R. Genazzani* и соавт. (Италия) привели данные о влиянии катехоламинов и серотонина на содержание эндорфинов в плазме, подчеркнув значение в этих процессах кортикотропин-релизинг-фактора. В докладе *A. J. Kastin* и соавт. (США) и сообщении его сотрудников *J. E. Zadina* и соавт. были представлены поведенческие и анальгезирующие эффекты опиатных пептидов при их периферическом введении взрослым животным, беременным самкам и показано их влияние на потомство. *H. L. Wen* и соавт. (Гонконг) привели результаты использования динорфина 1-10 амида в клинике, отметив его анальгезирующий эффект при лечении раковых больных.

В кратких сообщениях других докладчиков также были приведены данные, указывающие на взаимодействие опиоидных пептидов с нейромедиаторами. *J. Vermees* и соавт. (Нидерланды), показавшие на срезах

мозга высвобождение β -эндорфина из ткани гипоталамуса, наблюдали торможение этого процесса под влиянием дофамина. В докладе *E. A. Громовай* и *А. Р. Чубакова* (СССР) было показано участие опиатных рецепторов в регулирующем влиянии серотонина на активность нейронов гиппокампа в культуре ткани. *F. J. H. Tilders* и соавт. (Нидерланды) привели данные, свидетельствующие об участии катехоламинов в высвобождении β -эндорфина из средней доли гипофиза при стрессе. Взаимоотношения эндорфинов и дофаминергических систем при стрессе у линейных мышей было рассмотрено *S. Calib* и соавт. (Италия). В ряде сообщений были приведены данные, указывающие на участие опиатных рецепторов в регуляции секреции гормонов (*V. Coiro* и соавт., *P. Lissoni* и соавт., *R. Marini* и соавт., *S. Locke* и соавт., Италия) на тормозные эффекты опиатов в отношении ганглиев (*M. Prosdocimi* и соавт., Италия) и двигательной активности кишечника (*D. Parolaro* и соавт., *M. Sala* и соавт., Италия), отмечен их анальгезирующий эффект (*S. Auditore* и соавт., Италия, *A. D. Korczyn* и *U. Ben-Am*, Израиль).

На заседаниях, посвященных патофизиологическим и клиническим аспектам исследований эндорфинов, состоялось 11 симпозиальных докладов и 27 кратких сообщений. Большинство докладов было посвящено роли опиоидов в патогенезе различных соматических и психических расстройств и лишь в нескольких сообщениях были отражены клинические аспекты.

Исследованиями *De Wide, Van Ree* (Нидерланды) установлено, что в основе психопатологии шизофрении лежит относительный дефицит эндорфинов γ -типа и нарушение их взаимодействия с медиаторными системами мозга. Исходя из этого, авторы лечили больных шизофренией эндорфинами γ -типа и получили антипсихотический эффект у половины из 64 больных.

G. Reina и соавт. (Италия), *S. Innocenti* и соавт. (Италия), *I. McIntoch* и соавт. (США) сообщили о повышении уровня β -эндорфина в плазме крови больных депрессивными и послеоперационными психозами. По данным *F. Brombilla* и соавт. (Италия), у лиц с первичными и вторичными аффективными расстройствами и шизофренией увеличивается, наряду с β -эндорфином, содержание в плазме также β -липотропина и АКТГ.

Группа докладов была посвящена роли опиоидов при алкоголизме и других формах наркоманий (*K. Blum*, США; *F. Savoldi*, Италия; *M. Ferrari* и соавт., Италия; *Larrari* и соавт., Италия). *K. Blum* изложил гипотезу о том, что прием алкоголя ведет к накоплению продуктов его метаболизма, стереоспецифически взаимодействующих с δ -опиоидными рецепторами, связывая, таким образом, действия алкоголя и опиатов. Знаменательно, что между предпочтением животных к этанолу и уровнем энкефалинов в мозгу существует отрицательная корреляция.

Среди сообщений, посвященных роли эндорфинов в патогенезе и лечении болевых синдромов (различные формы шока, мигрени и другие

боли), центральным был доклад *J. Holaday* (США), в котором автор дал подробный анализ роли эндорфинов в патогенезе шока и показал повышенное содержание при этом в плазме животных β -эндорфина и энкефалинов. Установлено, что в патогенезе циркуляторного шока основную роль играют опиоиды, выделяемые ЦНС, но не гипофизом и надпочечниками. Важное значение эндорфинов в патогенезе головных болей показали *I. Nappi* и соавт. (Италия). По их данным содержание β -эндорфина снижено в СМЖ при заболеваниях общей мигренью, что, как считают авторы, является биологической особенностью этих больных. Последующие сообщения *M. Spilantini* и соавт. (Италия), *E. Baldi* и соавт. (Италия) показали, что причиной снижения опиоидов является повышенная активность энкефалиназы, обнаруженная у таких больных.

Представленные на симпозиуме материалы свидетельствуют об интенсивном развитии во многих лабораториях мира исследований по анализу структуры и функции опиоидных пептидов и синтезу их аналогов. К сожалению, на симпозиуме не нашло должного отражения состояние этих исследований в Советском Союзе. Хотелось бы надеяться, что на следующих международных собраниях, посвященных этим вопросам, будет представлено больше работ, отражающих достижения советских ученых.

ГРОМОВА Е. А.,
ЧУБАКОВ А. Р.

САТЕЛЛИТНЫЕ СОБРАНИЯ IX МЕЖДУНАРОДНОГО СОБРАНИЯ ПО НЕЙРОХИМИИ (Ванкувер, июль 1983 года).

В ранее опубликованной статье (журн. «Нейрохимия», т. 3, № 1, 71—84, 1984 г.) сообщалось об основных научных достижениях, достигнутых на IX Международном собрании по нейрохимии. Наряду с заседаниями, проходившими в Ванкувере и ряде городов Канады, проводились спутные собрания по различным вопросам нейрохимии. Приводим некоторые данные по сообщениям, опубликованным в «Новостях Международного общества по нейрохимии» (JSN News).

Следовые амины и нейронауки. Первая конференция по этой теме была проведена в Эдмонтоне с 19 по 21 июля 1983 г. и организована *A. A. Boulton*, *A. B. Baker*, *W. A. Dewhurst* и *M. Sandler* в рамках пяти различных секций. Существующие методологические подходы анализа следовых аминов были обсуждены в докладах *D. A. Durdan* (высокоэффективная и метастабильная масс-спектрометрия), *J. M. Saavedra* (радионуклидные методы) и *C. B. Baker*, *R. T. Coultis*, *J. M. Martin* (газовая хроматография). Доклады *S. N. Young*, *S. R. Phillips* и *F. Karoun* были посвящены распределению и метаболизму следовых аминов в периферической и центральной НС и в биологических жидкостях тела. На конференции были обсуждены вопросы, связанные с

нейроморфологией и нейрофизиологией этих аминов (A. V. Jurio, C. H. Vanderwolf, L. Dyck, R. S. G. Jones, T. P. Hicks), в докладах D. M. Jackson, A. Greenshaw, B. J. Diamond, C. Dourish сообщалось о роли следовых аминов в поведенческих реакциях. Наконец, в докладах P. H. Yu, M. Sandler, D. L. Murphy, C. P. Reynolds, P. R. Bieck были приведены данные об изменении содержания аминов при лечении нейролептиками и антидепрессантами больных, страдающих шизофренией, агрессивной депрессией.

В 55 сообщениях было показано, что термин «следовые амины» не совсем точно отражает суть проблемы, особенно в отношении беспозвоночных животных, так как эти амины обнаружены в достаточной концентрации в различных участках ЦНС и имеют функциональное и клиническое значение. Ожидается, что вторая конференция по аминам в нервной системе состоится в дни проведения X Международного собрания по нейробиологии в 1985 г. в Италии. Доклады по следовым аминам будут опубликованы отдельной книгой «Нейробиология следовых аминов: аналитические, физиологические, фармакологические, поведенческие и клинические аспекты».

Тканевая культура в нейробиологии. На этой сессии обсуждались вопросы, связанные с клеточной дифференцировкой, клеточной адгезией, трофическими факторами, дериватами нервного креста и гипоталамическими клетками, опухолями ЦНС. Были представлены также 43 стендовых сообщения.

Метаболические взаимоотношения между глутамином, глутаматом и ГАМК в ЦНС. Этот спутеллитный симпозиум состоялся с 17 по 20 июля 1983 г. в Саскатуне, организаторами были L. Hertz, E. Kwatme, E. G. Mc Geer и A. Schousboe. На этом собрании была предпринята попытка объединить результаты исследований в различных областях для создания общей концепции о роли глутамина, глутамата и ГАМК для функционирования головного мозга и сетчатки. Были обсуждены: 1) характеристики и регуляторные механизмы ферментов, ответственных за взаимопревращение этих соединений; 2) транспортные процессы между различными клеточными популяциями и метаболические пути, приводящие к декарбоксированию аминокислот, включая их использование в качестве предшественников нейротрансмиттеров и метаболических субстратов, а также их роль в метаболизме аммиака; 3) фармакологические параметры, включая последние достижения в исследовании рецепторов ГАМК, глутамата и аспартата; были обсуждены также данные, касающиеся характеристики различных метаболических пулов глутамата и ГАМК. Эти аспекты обсуждались не только в отношении нормы, но также при патологии (например, эпилепсии) или под влиянием определенных биологически активных веществ; они были представлены на различных структурных уровнях, начиная от целого мозга до субклеточных частиц intactных клеток и ферментативных препаратов. Эти данные будут опубликованы в книге «Глутамин, глутамат и ГАМК в центральной нервной системе» (под ред. Alan R. Liss).

Физиологическая роль фосфолипидов в НС. Этот сателлитный симпозиум состоялся в Харрисон Хот Спринге. Были обсуждены следующие вопросы: биологическая роль кислых фосфолипидов (особое внимание было обращено на гидролиз трифосфоннозита), метаболическая регуляция мембранных фосфолипидов и ее функциональные аспекты, изменение метаболизма липидов при экспериментальном гиперфосфолипидозе, ишемии и старении, гидролиз фосфолипидов ретины *in vivo*, активность очищенной диглицеридлипазы, фосфодиэстеразы, фосфолипаз А₁, А₂, Д и лизофосфолипаз. Ряд докладов был посвящен вопросам модификации фосфолипидов N-метилтрансферазой, аксональному транспорту липидов и их транспорту между мембранами *in vitro* и т. д.

Экспериментальный аллергический энцефаломиелит и множественный склероз. С 16 по 19 июля 1983 г. состоялось сателлитное собрание в Снэтле, Вашингтон. Организаторами были E. C. Alvord, M. W. Kies, A. J. Suckling. Доклады симпозиума будут опубликованы в сборнике «Экспериментальный аллергический энцефаломиелит—хорошая модель рассеянного склероза?».

Структура ганглиозидов, функция в биомедицинской практике. Этот симпозиум состоялся с 6 по 10 июля в Ванкувере. Организаторами его были R. Ledeen, R. Yu, M. Rapport, K. Suzuki и G. Tettamanti. Присутствовали 47 докладчиков из 13 стран, было сделано 28 стендовых сообщений. Большой интерес вызвали доклады, посвященные истории открытия гликолипидов (T. Yamakawa), иммунологии ганглиозидов (M. Rapport), использованию клеточных культур в изучении ганглиозидов (P. Mandel). Были представлены доклады по использованию масс-спектрального протонного ядерно-магнитного резонанса, высокоэффективной жидкостной хроматографии и других методов в изучении ганглиозидов. На одном из заседаний были обсуждены вопросы распределения ганглиозидов в различных органах, клеточных и субклеточных структурах, роли гликопептидов как поверхностных компонентов клеточных мембран. Были представлены новые данные об аксональном транспорте ганглиозидов в центральной и периферической НС, а также метаболизме экзогенно введенных белков в катаболизме гликофинголипидов и предложен возможный механизм биосинтеза ганглиозидов с использованием тулкоминина. Обнаружено, что ганглиозиды выполняют модуляторную роль при взаимодействии биологически активных лигандов с рецепторами клеточной поверхности. Новые данные были представлены об изменении в составе и содержании ганглиозидов при первых заболеваниях как у человека, так и в модельных опытах на животных, о роли ганглиозидов в регенерации периферических нервов (стимулирование выпячивания аксонов нервной клетки) и их применении в практической медицине.

ГАЛОЯН А. А.

НЕКОТОРЫЕ ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ СИСТЕМЫ ГАМК И
СОПРЯЖЕННЫХ РЕАКЦИЙ В ГОЛОВНОМ МОЗГУ
ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ

САВИЦКИЙ И. В., РОЗАНОВ В. А., ЦЫБУЛЬСКИЙ В. В.

Работа представляет собой анализ и сопоставление ранее опубликованных и новых данных авторов об особенностях функционирования ГАМК-шунта, его взаимоотношения с α -кетоглутаратдегидрогеназной реакцией и процессами трансаминирования и о динамике содержания нейромедиаторных аминокислот ГАМК и глутамата (ГЛ) в головном мозгу мышей и кроликов при общем (4,5 Гр) и локальном (15 Гр на область головы) ионизирующем облучении.

Обнаружено, что общее однократное облучение животных приводит к угнетению функции ГАМК-шунта в коре, мозжечке, стволовой части головного мозга, а также в сером и белом веществе спинного мозга. Об этом свидетельствует стойкое снижение активности ГАМК-трансаминазы на фоне фазных изменений активности ГЛ-декарбоксилазы. В этот же период отмечается торможение основного энергетического пути — окислительного декарбоксилирования α -кетоглутарата и фазные изменения активности аспартат- и аланинаминотрансфераз. Энзиматические сдвиги сопровождались повышением уровня ГАМК в коре и стволе и его снижением в мозжечке.

Локальное облучение области головы животных приводило к принципиально однотипным изменениям в системе ГАМК и сопряженных реакциях, которые характеризовались кратковременным подъемом ГЛ-декарбоксилазной активности, стойким и продолжительным торможением функции ГАМК-трансаминазы, повышением уровня ГАМК (особенно на 7-е сутки после воздействия) и снижением содержания ГЛ. Одновременно (в первые 7 суток после облучения) в ткани головного мозга отмечалось достоверное угнетение α -кетоглутаратдегидрогеназной активности, снижение уровня СоА и повышение содержания α -кетоглутарата.

Полученные данные свидетельствуют о том, что как общее, так и локальное лучевое воздействие на организм приводит к угнетению альтернативных путей утилизации α -кетоглутарата (α -кетоглутаратдегидрогеназной реакции и ГАМК-шунта), что сопровождается повышением

содержания в ткани мозга ГАМК и α -кетоглутарата и снижением содержания ГЛ. Последнее можно расценивать как проявление дисбаланса между содержанием тормозного и возбуждающего нейромедиатора, что, в свою очередь, может быть причиной функциональных расстройств в ЦНС при лучевых воздействиях.

13 с., ил. 3, библиогр. 18
Медицинский институт им. Н. И. Пирогова,
Одесса

Поступила 3. IX 1982 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИН

УДК 591.3.612.825

КОНЦЕНТРАЦИОННЫЕ РАЗЛИЧИЯ КАТЕХОЛАМИНОВ И СЕРОТОНИНА В КОРЕ ПРАВОГО И ЛЕВОГО ПОЛУШАРИИ МОЗГА КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ОГРАНИЧИВАЮЩЕМ РОСТ ПИТАНИИ

ГОРДИЕНКО Э. А., ЖУБРИКОВА Л. А.

Степень биохимической и функциональной гетерогенности структур мозга у животных на разных этапах постнатального развития меняется неоднозначно. Имеются сведения о существенных отличиях парной деятельности больших полушарий у людей и животных в процессе постнатального развития, о биохимических различиях парных образований мозга, поддерживающие представления о метаболическом обеспечении функциональной разнородности областей мозга. В данной работе определена концентрация серотонина, дофамина (ДА) и норадреналина (НА) в коре правого и левого больших полушарий мозга крыс (самцов) 2-, 3-, 24-месячного возраста (контрольных и подопытных, находящихся на ограничивающей рост, калорийно недостаточной, но полноценной диете). Для каждого животного рассчитано также отношение ДА/НА в каждом из полушарий при условии преобладания ДА в правом или левом полушариях. Результаты демонстрируют наличие у большинства животных некоторых различий концентраций ДА (у контрольных 3- и 12-месячных крыс—81 и 77%, подопытных—92 и 73%), НА (соответственно у контрольных—77 и 68%, у подопытных—74 и 70%) и серотонина (соответственно у контрольных—73 и 81%, у подопытных—70 и 76%) между корой правого и левого полушарий. Среди 24-месячных крыс данной выборки найдено снижение количества особей с асимметрией концентрации серотонина (в контроле—до 52%, подопытной группе—до 59%) по сравнению с предыдущими возрастными группами. Для этой группы отмечено также существенное снижение процента крыс с асимметрией

концентрации НА (43%) и ДА (68%) по сравнению с контролем (74 и 87% соответственно). В группах животных с асимметрией концентраций серотонина и НА не выявлено возрастных различий исследуемых показателей между корой правого и левого полушарий. Но для контрольных животных отмечена наивысшая степень отличия у 12-месячных крыс для ДА. Анализ величин отношения ДА/НА показал, что при преобладании ДА в правом полушарии в контрольной и подопытной группах величина отношения в нем в 3- и 12-месячном возрасте выше, чем в левом, при этом у крыс с алиментарным дефицитом степень этого различия оказалась большей по сравнению с контролем. Для 24-месячных крыс подопытной группы, в отличие от контроля, для которого отмечено снижение индекса «специфичности» полушарий, сохраняется ошутимое различие между величинами отношения для правого и левого полушарий. При преобладании ДА в левом полушарии величина отношения в нем у контрольных животных была существенно выше у 3- и 24-месячных крыс, тогда как у 12-месячных крыс данной выборки не было столь четкого различия между полушариями. В подопытных группах во все возрастные периоды можно отметить закономерное преобладание величины отношения ДА/НА в коре левого полушария по сравнению с «дедоминирующим» по ДА правым полушарием. Таким образом, асимметрия концентрации катехоламинов и серотонина является показателем, демонстрирующим метаболические различия полушарий мозга, особенности этих различий у животных разных возрастов, а также поддержание «специфичности» коры правого и левого полушарий у старых животных при сдерживающем рост питания по сравнению с контролем.

11 с., ил. 3. библиогр. 27
ИИИ биологии государственного
им. А. М. Горького, Харьков

Поступила 25. X 1983

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ

О ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ СВОЙСТВАМИ ДЕЗАМИНИРУЮЩИХ СЕРОТОНИН МОНОАМИНОКСИДАЗ И АГРЕССИВНЫМ ПОВЕДЕНИЕМ ЛИСИЦ

ВОИТЕНКО Н. Н.

Агрессия, вызванная страхом, у многих животных является одним из серотонинзависимых видов агрессии. Физиологический уровень серотонина в мозгу поддерживается МАО (КФ 1.3.4). Участие МАО головного мозга в регуляции вызванной страхом агрессии, такой, как агрессия на человека, изучали на двух группах серебристо-черных лисиц:

неагрессивных по отношению к человеку, domesticируемых, и агрессивных, педоместичируемых.

Активность МАО определяли в митохондриальной фракции ствола головного мозга по образованному в процессе дезаминирования серотонина аммиаку. Кинетические характеристики реакции дезаминирования серотонина измеряли по начальным скоростям реакции при различных концентрациях субстрата в отсутствие экзогенных эффекторов и в присутствии ингибитора МАО—хлоргиллина.

Показано, что у неагрессивных лисиц снижена активность дезаминирующей серотонин МАО при всех изученных концентрациях серотонина, понижено сродство МАО к серотонину. В отсутствие экзогенного ингибитора как у агрессивных, так и у неагрессивных лисиц кооперативные взаимодействия между центрами МАО, связывающими серотонин, при его концентрациях, близких к K_m , отсутствуют, и кривые зависимости скорости реакции от концентрации субстрата имеют вид гиперболы. В присутствии хлоргиллина у животных обеих поведенческих групп найдено отчетливое отличие этих кривых (негиперболический характер), причем величина p_n для кривой зависимости скорости реакции от концентрации субстрата у обеих групп животных была почти одинакова. В то же самое время обнаружено существенное отличие значений p_n для кривой зависимости скорости реакции от концентрации ингибитора хлоргиллина у агрессивных и неагрессивных лисиц.

Предполагается, что у животных двух поведенческих групп различие в активности МАО и кинетических характеристиках реакции дезаминирования серотонина связано с неодинаковым количеством дезаминирующих серотонин высокоактивных и малоактивных форм МАО.

19 с., ил. 8, библ.огр. 31
Институт цитологии и генетики
СО АН СССР, Новосибирск

Поступила 25. X 1983

Полный текст статьи депоиирован в ВИНТИ

УДК 377.156 : 612.015

КИСЛЫЙ ГЛИАЛЬНЫЙ ФИБРИЛЛЯРНЫЙ БЕЛОК В ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА РАЗЛИЧНОЙ ГИСТОСТРУКТУРЫ И СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ

БЕРЕЗИН В. А., ШЕВЧЕНКО Г. М., *ЖМАРЕВА Е. Н., КУЗНЕЦОВ А. В.,
КУЗНЕЦОВА И. В.

Глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP) очищен из мозга человека экстракцией 0,005 М фосфатным буфером при pH 8,0, осажде-

нием ацетатным буфером при pH 4,7, хроматографией переведенного в раствор при pH 8,0 GFAP на гидроксипатите, пересаживанием 30%-ным сульфатом аммония. Степень очистки—23,8; выход—1,63%. Полученная моноспецифическая антисыворотка была использована для характеристики и количественного определения GFAP методами иммуноэлектрофореза. Перекрестный аффинный иммуноэлектрофорез препаратов GFAP, проведенный в присутствии гранулированной фенил-сефарозы и различных концентраций ионного детергента тритона X-100, показал, что белок обладает высоким сродством к иммобилизованным гидрофобным фенильным остаткам и может быть элюирован только высокими (свыше 2%) концентрациями детергента. Количественное определение GFAP в образцах опухолей различной гистоструктуры и гистогенеза (астроцитомы—11, атипические астроцитомы—11, медуллобластомы—4, олигодендроастроцитомы—4, глиобластомы—12, эпендимомы—3, менингиомы—7, невриномы—3, саркомы и метастазы рака—3), а также степени злокачественности было проведено ракетно-линейным иммуноэлектрофорезом. Анализ статистической достоверности кривых распределения содержания GFAP, построенных для опухолей каждого типа злокачественности, показывает, что для астроцитом (I степень злокачественности) еще только намечается бимодальность в распределении этого специфического белка. Для средней степени злокачественности (II—III степени), в основном для атипических астроцитом, олигодендроастроцитом и эпендимом, наблюдается четкое бимодальное распределение. В отношении количественного распределения GFAP, по-видимому, имеются две основных тенденции «эволюции» астроцитом в атипические астроцитомы: в сторону значительного увеличения и в сторону уменьшения количества GFAP. Глиобластомы (IV степень злокачественности) имеют пик распределения в области низких значений концентрации GFAP.

Изучение распределения GFAP (так же, как и других специфических клеточных компонентов) в опухолях мозга различной степени злокачественности необходимо для понимания закономерностей генеза глимальных элементов при малигнизации.

16 с., ил. 6, библиогр. 14

Днепропетровский госуниверситет,

*НИИ нейрохирургии МЗ УССР, Киев

Поступила 7. VII 1983

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ СИНТЕЗА РНК В КЛЕТОЧНЫХ ЯДРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЭТИМИЗОЛА

КУЛИКОВА О. Г., БЕЛЯВЦЕВА Л. М., ЕФРЕМОВА Л. С., БОГДАНОВА Н. А.,
РАЗУМОВСКАЯ Н. И., БОРОДКИН Ю. С.

Обнаружено, что стимулятор долговременной памяти этимизол оказывает не только стимулирующее, но и тормозящее влияние на РНК-синтезирующую активность клеточных ядер серого вещества коры больших полушарий мозга крыс. Противоположные эффекты этимизола зависят от длительности действия препарата.

Динамика действия этимизола на функциональную активность клеточных ядер совпадает с установленной нами ранее динамикой связывания меченого препарата с цитоструктурами мозга. Внутривнутрибрюшинное введение этимизола (1,5 мг/кг массы тела) за 5; 30 мин и 24 ч до декапитации животного приводит к снижению синтеза РНК клеточными ядрами по сравнению с контролем на 14, 17 и 24% соответственно. При введении препарата за 1 и 3 ч до опыта проявляется стимулирующий эффект (на 26 и 35% соответственно). Установлено, что снижение или стимуляция синтеза РНК обусловлены аналогичными изменениями транскрипционной активности хроматина.

Введение этимизола приводит к изменениям общего содержания кальция в ядрах, имеющих также противоположную направленность в зависимости от сроков действия препарата. Предполагается, что сдвиги кальциевого гомеостаза ядер являются одной из причин изменений интенсивности транскрипции.

9 с., ил. 3, библиогр. 12
Институт экспериментальной
медицины АМН СССР, Ленинград

Поступила 12. III 1984

Полный текст статьи депонирован в ВИННИТИ

УДК 577.153.4+597.11

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И СУТОЧНЫЕ РИТМЫ АКТИВНОСТИ ХОЛИНЭСТЕРАЗ В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ ЦНС И ВНУТРЕННИХ ОРГАНАХ ТОЛСТОЛОБИКА

ХАЙДАРЛИУ С. Х., КРЕПИС О. И., ТОНКОГЛАС В. П., ДУХОВНАЯ Н. П.

Представлены данные о распределении активности холинэстераз в различных областях ЦНС и внутренних органах толстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) и особенностях изменения активности

ферментов в зависимости от времени суток и возраста рыб. Установлено, что ЦНС и внутренние органы рыб характеризуются существенными региональными различиями в распределении активности холинэстераз, степень выраженности которых зависит от их возраста. По величине активности ферментов изученные отделы ЦНС образовали следующий ряд: мозжечок > гипоталамус > средний > продолговатый > спинной > передний мозг. Среди внутренних органов наиболее высокой активностью холинэстераз обладали мышцы и сердце. Выявлена четкая суточная динамика активности ферментов. Наивысшие показатели активности холинэстераз в ЦНС отмечались в ночные и утренние часы, а к 15 ч наблюдалось их уменьшение, особенно выраженное в мозжечке, среднем и продолговатом мозгу. В вечерние часы активность холинэстераз возрастала в мозжечке и среднем мозгу, а в переднем мозгу снижалась. Холинэстеразная активность в гипофизе по величине приближалась к показателям тканей ЦНС, а по суточной ритмике — к гипоталамусу, среднему мозгу и мозжечку. Суточная динамика активности холинэстераз в целом коррелировала с функциональной активностью и биологическими ритмами активности данного вида рыб.

13 с., ил. 4, библиогр. 21
Институт зоологии и физиологии
АН Молдавской ССР, Кишинев

Поступила 9. IV 1984

Полный текст статьи депонирован в ВИННТИ

УДК 612.821.6 : 612.8.015

ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ АХЭ НОВОЙ КОРЫ И ГИПОКАМПА КРЫС ПРИ БЫСТРОМ И МЕДЛЕННОМ ОБУЧЕНИИ

ЧЕРНЫШЕВСКАЯ И. А., ЛОСЕВА Е. В.

Изучали гистохимическим методом Карновского-Руте активность АХЭ в двигательной и передней лимбической зонах новой коры и в полях СА1 и СА3 гиппокампа при выработке у крыс условного рефлекса двустороннего избегания (УРДИ). В работе использовано 60 беспородных белых крыс-самцов массой 140—180 г. Наряду с подопытными животными использовали 2 контрольные группы: активный контроль — крысы, которые получали такое же число световых и электрокожных раздражений, что и подопытные, но вне сочетаний; и пассивный контроль — крысы, не подвергавшиеся специальным воздействиям. Животных делили на 2 группы: с быстрой выработкой УРДИ (число сочетаний свет+электрокожное раздражение составляло 24—40 предъявлений) и с медленной выработкой УРДИ (число предъявлений 53—70).

Для оценки интенсивности АХЭ реакции применяли описанный ранее метод визуального сравнения (Лосева Е. В., Диш Т. Н., Стефанов С. Б., Изв. АН СССР, сер. биол. н., 1, 133—137, 1984) с последующим определением достоверности по критерию знаков. Для определения тенденции сдвигов АХЭ активности была введена величина, называемая коэффициентом связи, учитывающая доли положительных и отрицательных сопоставлений (в %). Были поставлены задачи: 1) сравнить АХЭ активность в указанных выше областях мозга крыс сразу и через сутки после выработки УРДИ; 2) сопоставить особенности изменений АХЭ активности мозга при малом (быстрое обучение) и большом (медленное обучение) числе предъявлений условных и безусловных стимулов. На основании исследований установлен сложный характер распределения АХЭ в системе кора-гиппокамп при использованных нагрузках во время выработки УРДИ, а именно, наличие реципрокных сдвигов уровня интенсивности АХЭ в новой коре и гиппокампе. Последнее, по-видимому, указывает на возможность циклических процессов, которые реализуются при участии холинергических механизмов новой и старой коры. Показано, что изменения АХЭ активности в ситуации выработанной условной связи и в обстановке преобладания стресса носят характер реципрокных отношений. Установлено, что направление сдвигов АХЭ активности при быстрой и медленной выработке УРДИ существенно отличается друг от друга.

11 с., ил. 1, библиогр. 13
Институт высшей нервной
деятельности и нейрофизиологии
АН СССР, Москва

Поступила 15. VIII 1983

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ

УДК 616.45—001.1/3:612.397.2+577.161

ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В МОЗГУ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ АКУСТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

МЕЛКОНЯН М. М.

Приведены результаты исследования влияния широкополосного шума уровнем 91 дБА и максимальной энергией в области средних и высоких частот при различной длительности его воздействия (1 ч, 8 ч, 7, 28, 56 дней ежедневно по 8 ч) на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состояние антиоксидантной системы в мозгу белых крыс.

Полученные данные свидетельствуют о значительном активировании индуцированного аскорбатзависимого (неферментативного) и

Для оценки интенсивности АХЭ реакции применяли описанный ранее метод визуального сравнения (Лосева Е. В., Диш Т. Н., Стефанов С. Б., Изв. АН СССР, сер. биол. н., 1, 133—137, 1984) с последующим определением достоверности по критерию знаков. Для определения тенденции сдвигов АХЭ активности была введена величина, называемая коэффициентом связи, учитывающая доли положительных и отрицательных сопоставлений (в %). Были поставлены задачи: 1) сравнить АХЭ активность в указанных выше областях мозга крыс сразу и через сутки после выработки УРДИ; 2) сопоставить особенности изменений АХЭ активности мозга при малом (быстрое обучение) и большом (медленное обучение) числе предъявлений условных и безусловных стимулов. На основании исследований установлен сложный характер распределения АХЭ в системе кора-гиппокамп при использованных нагрузках во время выработки УРДИ, а именно, наличие реципрокных сдвигов уровня интенсивности АХЭ в новой коре и гиппокампе. Последнее, по-видимому, указывает на возможность циклических процессов, которые реализуются при участии холинергических механизмов новой и старой коры. Показано, что изменения АХЭ активности в ситуации выработанной условной связи и в обстановке преобладания стресса носят характер реципрокных отношений. Установлено, что направление сдвигов АХЭ активности при быстрой и медленной выработке УРДИ существенно отличается друг от друга.

11 с., ил. 1, библиогр. 13
Институт высшей нервной
деятельности и нейрофизиологии
АН СССР, Москва

Поступила 15. VIII 1983

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ

УДК 616.45—001.1/3 : 612.397.2+577.161

ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В МОЗГУ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ АКУСТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

МЕЛКОНЯН М. М.

Приведены результаты исследования влияния широкополосного шума уровнем 91 дБА и максимальной энергией в области средних и высоких частот при различной длительности его воздействия (1 ч, 8 ч, 7, 28, 56 дней ежедневно по 8 ч) на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состояние антиоксидантной системы в мозгу белых крыс.

Полученные данные свидетельствуют о значительном активировании индуцированного аскорбатзависимого (неферментативного) и

NADPH-зависимого (ферментативного) ПОЛ, снижении уровня α -токоферола и изменениях активности супероксиддисмутазы, глутатион-пероксидазы, глутатионредуктазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы мозга в условиях акустического стресса у самок крыс. Интенсивность и направленность сдвигов зависят от сроков воздействия и изучаемого параметра. Изменения наиболее выражены в период острого стресса. Анализ полученных результатов и сопоставление с ранее полученными данными у самок свидетельствуют о большей стабильности системы ПОЛ в мозгу у самок по сравнению с самцами в условиях акустического стресса. Профилактическое введение α -токоферилацетата в дозе 1 мг/кг массы оказывает регуляторное влияние на изучаемые параметры. Отмечается корреляция между уровнем α -токоферола, интенсивностью ПОЛ и активностью ферментов антирадикальной защиты клетки во все сроки эксперимента.

8 с., ил. 2, библиогр. 12
Государственный медицинский
институт, Ереван

Поступила 10. V 1984

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ

УДК 612.453:577.171.6

ИЗМЕНЕНИЕ ЦИТОЗОЛЬНОЙ РЕЦЕПЦИИ КОРТИКОСТЕРОНА В ГИПОТАЛАМУСЕ И ГИПОФИЗЕ АДРЕНАЛЭКТОМИРОВАННЫХ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ГИДРОКОРТИЗОНА

ЖУКОВ Д. А.

Изучали изменение связывания кортикостерона цитозольными рецепторами в гипофизе и гипоталамусе, вызванное введением фармакологической дозы гидрокортизона, приводящим к длительному торможению гипофиз-адреналовой системы. Исследование производилось методом радиорецепторного анализа: определялось связывание ^3H -кортикостерона и его вытеснение избытком немеченого гормона в гомогенатах тканей изучаемых структур.

Было обнаружено, что через сутки после введения гидрокортизона в дозе 50 мг/кг величина рецепторного связывания ^3H -кортикостерона резко снижается и составляет 10—15% от первоначального уровня. На таком же пределе цитозольная рецепция остается и к третьим суткам, а к шестым величина рецепции несколько возрастает, достигая исходного значения лишь через 12 суток после введения гидрокортизона. Для изучения взаимосвязи блокирующего эффекта гидрокортизона на гипофиз-адреналовую систему с его способностью уменьшать число рецепторов в гипоталамусе и гипофизе у крыс, которым вводился гидрокортизон в указанной дозе, исследовали содержание эндогенных кортико-

стероидов в плазме крови. У них было обнаружено снижение базального уровня кортикостероидов в 2 раза, которое сохранялось на протяжении недели.

Полученные данные свидетельствуют о том, что после введения фармакологической дозы гидрокортизона торможение гипофиз-адреналовой системы коррелирует во времени со снижением величины рецепторного связывания кортикостерона в гипофизе и гипоталамусе.

8 с., ил. 2, библиогр. 21

Институт физиологии им. Н. П. Павлова
АН СССР, Ленинград

Поступила 9. II 1983

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ

УДК 616.895.8 : 577.17

О НЕКОТОРЫХ НЕИРОХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ РЕГУЛЯЦИИ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ У БОЛЬНЫХ ПАРАНОИДНОЙ ШИЗОФРЕНИЕЙ

(Сообщение. I)

АЛИЕВ Н. А.

У 15 больных острой и 20 хронической шизофренией изучен комплекс показателей, характеризующих состояние серотонинергической системы [серотонин, 5-оксиндолюксусная кислота (5-ОИУК)] и иммунного статуса (Т-, В-лимфоциты, иммуноглобулины А, М, G). Результаты исследований сопоставлены с данными у 20 здоровых лиц. Выявлено, что у больных острой шизофренией концентрация серотонина снижена (в крови и ликворе), а экскреция с мочой конечного продукта его инактивации—5-ОИУК повышена. Это свидетельствует об усилении катаболизма серотонина, что, возможно, связано с высокой активностью ферментных систем, регулирующих распад индоламинов. В данной группе больных обнаружено увеличение показателей клеточного (Т-лимфоциты) и гуморального (В-лимфоциты, иммуноглобулины А, М, G) иммунитета.

У больных хронической шизофренией увеличение содержания серотонина (в ликворе и крови) и 5-ОИУК (в суточной моче) сопровождалось снижением интенсивности клеточного и гуморального иммунитета.

Применение препаратов с достаточно избирательным действием на концентрацию серотонина у больных шизофренией позволило выявить, что активация серотонинергической системы резерпином или блокирование ее дезерилом приводит, соответственно, к угнетению или сти-

муляции интенсивности иммунных реакций. Это свидетельствует об иммуносупрессирующем действии серотонинергической системы на модуляцию иммунных реакций, что необходимо учитывать в практике лечения больных шизофренией.

8 с., библиогр. 10

Психиатрическая больница № 3 МЗ АзССР, Баку

Поступила 12. III 1984

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ

ЗАМЕЧЕННЫЕ ОПЕЧАТКИ

Страница	Строка	Напечатано	Следует читать
230	16 снизу	Обратное ингибирование	обратимое ингибирование
240	9 сверху	мембран легких	мембран, легких
250	1 снизу	в мкмоль NH_4^+ ткани/час	в мкмоль NH_4^+ г ткани/ч
321	15 снизу	в Ванкувере и ряде городов Канады,	в Ванкувере, в ряде городов Канады

СОДЕРЖАНИЕ

Шеманов А. Ю., Кудрин В. С., Равский К. С. Влияние Des-Тур-γ-эндорфина и тетрапептидамида на биосинтез дофамина в синаптических мозгах крыс	227
Герштейн Л. М., Доведова Е. Л., Узбеков М. Г., Голикова Г. Л., Сергутина А. В., Ашмарин И. П. Пролонгированное действие тетрапептидамида на особенности обмена белков и медиаторов в отдельных микроструктурах мозга	236
Муралидар К., Удайя Кумар М. А., Венкатесвара Прасад Б., Садисивуду Б. Влияние таурина на содержание биогенных аминов и активность Na^+ , K^+ -АТРазы и Ca^{2+} -АТРазы различных отделов мозга крыс	244
Фесенко Е. Е., Крапивинский Г. Б., Маслов А. А., Перзухин Г. Я. Эндогенное фосфорилирование белков в антеннах тутового шелкопряда <i>Bombix mori</i>	257
Гуляева Н. В. Активность цитохромоксидазы и содержание цитохромов в мозгу крыс при хроническом эмоционально-болевым стрессе	260
Березин В. А., Жмарева Е. Н., Шаповал Т. Н., Жолудь Л. М. Нейроспецифические мембранные антигены в опухолях головного мозга человека	269

Краткие сообщения

Никитина З. С., Сытинский Н. А. Действие тетрапептида таурина на систему ГАМК в головном мозгу крыс	276
Скобелева Н. А., Бухман В. Л., Захарян Р. А., Назарян К. Б., Казарян Б. А. Идентификация нейроспецифического белка 14-3-2 в бесклеточной белок-синтезирующей системе	280
Гастева С. В., Рейзе Т. Е., Шарагина Л. М. Метаболизм фосфолипидов в субклеточных структурах ткани мозга крыс при тяжелой гипоксии	284
Мартинян А. Р., Вартамян Г. С., Карагезян К. Г. Изучение состава и содержания незэтерифицированных жирных кислот в головном мозгу белых крыс с аллоксановым диабетом	288
Долго-Сабуров В. Б., Космачев А. Б., Кузешов В. И., Матвеев В. И. Влияние хлорофоса на проницаемость гематоэнцефалического барьера	291

Обзоры

Бурчинский С. Г. Нейрохимические механизмы регуляции системы дофаминовых рецепторов при старении	295
Эмирбеков Э. З., Львова С. И. Нейрохимические изменения при зимней спячке	306

Хроника

Громова Е. А., Чубаков А. Р. Международный симпозиум по центральным и периферическим эндорфинам (экспериментальный и клинический аспекты)	318
Галоян А. А. Симпозиумы-сателлиты IX Международного собрания по нейрохимии (Ванкувер, июль 1983 г.)	322

Рефераты статей, направленных на депонирование в ВИНТИ

Савицкий Н. В., Розанов В. А., Цыбульский В. В. Некоторые итоги изучения системы ГАМК и сопряженных реакций в головном мозгу при действии ионизирующих излучений	324
--	-----

<i>Гордиенко Э. А., Жубрикова Л. А.</i> Концентрационные различия катехоламинов и серотонина в коре правого и левого полушарий мозга крыс разного возраста при сдерживающем рост питании	325
<i>Войтенко Н. Н.</i> О взаимосвязи между свойствами дезаминарующих серотонин моноаминоксидаз и агрессивным поведением лисиц	326
<i>Березин В. А., Шенченко Г. М., Жмарева Е. Н., Кузнецов А. В., Кузнецова Н. В.</i> Кислый глальный фибриллярный белок в опухолях головного мозга различной гистоструктуры и степени злокачественности	327
<i>Кузикова О. Г., Белявцева Л. М., Ефремова Л. С., Богданова Н. А., Разумовская Н. И., Бородкин Ю. С.</i> Динамика изменений синтеза РНК в клеточных ядрах головного мозга крыс под действием этимизола	329
<i>Хий-Эрлицу С. Х., Крепис О. И., Тонкоглас В. П., Духовная И. П.</i> Распределение и суточные ритмы активности холинэстераз в различных отделах ЦНС и внутренних органах толстолобика	329
<i>Чернышевская Н. А., Лосева Е. В.</i> Гистохимическое исследование активности АХЭ новой коры и гиппокампа крыс при быстром и медленном обучении	330
<i>Мелкоян М. М.</i> Процессы перекисного окисления липидов в мозгу белых крыс при акустическом стрессе	331
<i>Жуков Д. А.</i> Изменение цитозольной рецепции кортикостерона в гипоталамусе и гипофизе адреналэктомированных крыс после введения гидрокортизона	332
<i>Алиев Н. А.</i> О некоторых нейрохимических механизмах регуляции иммунных реакций у больных паранойдной психозом (сообщение I)	333

CONTENTS

<i>Shemanov A. Yu., Kudrin V. S., Rayevsky K. S.</i> Effect of Des-Tyrosine- γ -Endorphin and tetrapeptide amide on dopamine biosynthesis in rat brain synaptosomes	227
<i>Gerstein L. M., Dovedova E. L., Uzbekov M. G., Golikova T. L., Sergutina A. V., Aschnarin I. P.</i> Prolonged action of tetrapeptide amide on protein and neurotransmitter metabolism in different brain ultrastructures	236
<i>Muralidhar K., Udaya Kumar M. A., Venkateswara Prasad B., Sadasivudu B.</i> Effects of taurine on biogenic amines, Na^+ , K^+ -activated ATPase and Ca^{2+} -dependent ATPase in different regions of rat brain'	244
<i>Fesenko E. E., Kravivinskiy G. B., Maslov A. A., Pervukhin G. Ja.</i> Endogenous phosphorylation of proteins in silkworm <i>Bombyx mori</i> antennae	254
<i>Gulijaeva N. V.</i> Cytochrome oxidase activity and cytochrome content in rat brain under chronic emotional-painful stress	260
<i>Berezin V. A., Zhmareva E. N., Shapoval T. I., Zholid L. M.</i> Neurospecific membrane antigens in human brain tumours	269

Short communications

<i>Nikitina Z. S., Sytinsky I. A.</i> Effect of tuftsin on GABA metabolism in rat brain	276
<i>Skobeleva N. A., Bukhman V. L., Zakharyan R. A., Nazaryan K. B., Kazaryan B. A.</i> Identification of neurospecific protein 14-3-2 in a cell-free protein-synthesizing system	280
<i>Gusteva S. V., Raize T. E., Sharygina L. M.</i> Phospholipid metabolism in brain subcellular fractions of rats under severe hypoxia	284
<i>Martikian H. R., Vartanian G. S., Karaguezian K. G.</i> Content and composition of nonesterified fatty acids in the brain of rats with alloxan diabetes	288
<i>Dolgo-Saburov V. B., Kosmachev A. B., Kuleshov V. I., Matveev V. I.</i> Effect of chlorophos on hematoencephalic barrier permeability	291

Reviews

<i>Burchinsky S. G.</i> Neurochemical mechanisms of regulation of the dopamine receptors system on aging	295
<i>Emirbekov E. Z., Lvova S. P.</i> Neurochemical changes during hibernation	306

Chronicles

<i>Gromova E. A., Chubakov A. R.</i> International Symposium on Central and Peripheral Endorphins (experimental and clinical aspects)	318
<i>Galoyan A. A.</i> Satellite Symposiums of the IX-th International Meeting for Neurochemistry (July 1983, Vancouver)	322

Summaries of manuscripts presented for deposition in All-Union Institute of Scientific and Technical Information

<i>Savitsky I. V., Rozanov V. A., Tzybulsky V. V.</i> Effect of ionizing radiation on the components of GABA and GABA-coupled systems in brain	324
<i>Gordienko E. A., Zhubrikova L. A.</i> Effect of malnutrition on the amount of	

catecholamines and serotonin in rat brain left and right hemispheres cortex	325
<i>Voitenko N. N.</i> Relationship between properties of serotonin deaminating MAO and aggressive behaviour in foxes	326
<i>Berezin V. A., Shevchenko G. M., Zhmareva E. N., Kuznetsov A. V., Kuznetsova I. V.</i> Glial fibrillary acidic protein in brain tumours with different histological structure and rate of malignancy	327
<i>Kelikova O. G., Belyavtseva I. M., Efremova L. S., Bogdanova N. A., Razumovskaya N. I., Borodkin Ju. S.</i> Effect of ethimizol on the dynamics of RNA synthesis in rat brain nuclei	329
<i>Haidarliu S. H., Krepis O. I., Tonkoglas V. P., Dukhovnaja N. P.</i> Distribution and circadian rhythms of cholinesterases activity in different regions of CNS and Internals of silver carp	330
<i>Chernyshevskaya I. A., Loseva E. V.</i> Histochemical distribution of acetylcholinesterase activity in rat neocortex and hippocampus under rapid and long-term training	331
<i>Melkonyan M. M.</i> Brain lipid peroxidation in white rats under acoustic stress	331
<i>Zhukov D. G.</i> Hydrocortizone-induced changes in cytosolic corticosteron reception in hypothalamus and hypophysis of adrenalectomized rats	332
<i>Aliev N. A.</i> Involvement of neurochemical mechanisms in the regulation of immune response in patients with paranoid schizophrenia (communication I)	333

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

1. В журнале публикуются статьи, содержащие ранее не опубликованные результаты экспериментальных исследований по биохимии нервной системы, обзоры по важнейшим вопросам современной нейробиологии, рецензии на новые издания и актуальная научная хроника. Объем рукописи (включая резюме, список литературы и иллюстрации) не должен превышать 15 с., напечатанных на машинке через 2 интервала. Объем обзоров не более 20 с., кратких сообщений, рецензий и хроники 4 с., а писем в редакцию—2 с. Рукопись статьи должна подписываться всеми авторами (2 экз.) и сопровождаться актом экспертизы (2 экз.) и направлением от учреждения.

2. Перед каждой статьей, кроме кратких сообщений, должно быть напечатано краткое резюме (через 1,5 интервала) объемом не более 0,5 с., которое должно отражать цель и основные результаты работы. Ко всем статьям без исключения на отдельном листе прилагается тот же текст на английском языке.

Экспериментальные статьи должны быть разбиты на разделы: материалы и методы, результаты и обсуждение, литература. Иногда более целесообразным являются разделы—результаты исследований и обсуждение результатов. В кратких сообщениях выделять указанные разделы не следует. Заглавие статьи должно быть ясным, кратким и информативным. Под заглавием следует указать фамилии и инициалы авторов, а в правом верхнем углу над ним индекс универсальной десятичной классификации (УДК).

3. Список литературы составляется в порядке цитирования. Все ссылки печатаются на машинке на языке оригинала через 1,5 интервала. В тексте ссылки даются в квадратных скобках. Цитируемая литература в списке приводится в следующем порядке: порядковый номер, фамилия и инициалы авторов на языке оригинала, название журнала, том, номер или выпуск, страницы, год издания. В случае сплошной нумерации страниц тома номер выпуска не указывать. При цитировании книги указывается также под чьей редакцией она издана, название издательства и место издания. Под списком литературы слева указывается полное название учреждения, в котором выполнена работа, а справа—дата ее поступления в редакцию.

4. Таблицы должны иметь заголовки, нумерацию и не превышать размера печатной страницы. Каждая таблица печатается на отдельном листе. Сокращение слов за исключением общепринятых в таблицах не разрешается. Необходимо указывать достоверность данных.

Рисунки, отчетливо выполненные тушью на плотной белой бумаге или кальке, представляются в конверте в двух экземплярах. На обороте каждого рисунка карандашом следует указать фамилии авторов, сокращенное название статьи и порядковый номер, для фотографии (на глянцевой бумаге) обозначить ее верх и низ. Подписи к рисункам и фотографиям представляются на отдельном листе.

5. В приложении к правилам для авторов, которое публикуется в каждом первом номере нашего журнала, приводится список наиболее часто употребляемых сокращенных обозначений, разрешаемых применять без специальной расшифровки. Используемые авторами другие сокращенные слова при первом упоминании даются полностью и в скобках в сокращенном виде. Фамилии иностранных авторов даются на языке оригинала.

6. Редакция имеет право сокращать и исправлять текст статьи, не изменяя ее основного содержания.

7. Редакция высылает автору второй экземпляр отредактированной рукописи для ознакомления и доработки. В случае возврата статьи для исправления датой поступления ее в редакцию считается день поступления исправленного текста.

8. Корректуру авторам редакция не высылает.