

Т. М. Мишунина, В. Я. Кононенко, Е. В. Лучицкий

УЧАСТИЕ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ В РЕГУЛЯЦИИ СЕКРЕЦИИ КОРТИКОТРОПИНА У КРЫС

Ранее нами было показано [3], что в механизм действия антисеротонинэргического препарата ципрогептадина, подавляющего секрецию кортикотропина [15] и рекомендуемого для лечения больных с гиперкортицизмом центрального генеза [16], может вовлекаться система гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) лимбических структур мозга и гипофиза.

В связи с тем, что в настоящее время появились сообщения, свидетельствующие, с одной стороны, о тормозящем действии ГАМК на продукцию и выделение кортиколиберина гипоталамусом [9, 14] и, с другой стороны, о возможности ее применения с терапевтической целью у больных болезнью Иценко — Кушинга [8], дальнейшее выяснение влияния ГАМК на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему представляет значительный теоретический и практический интерес.

Мы изучали влияние экзогенной ГАМК на содержание в гипоталамусе и гиппокампе аланина, глутаминовой кислоты, эндогенной ГАМК, а также на активность фермента, ответственного за синтез ГАМК — глутаматдекарбоксилазы (КФ 4.1.1.15) — в гипоталамусе, гиппокампе и гипофизе крыс. Параллельно исследовали один из основных показателей деятельности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы — уровень кортикотропина в плазме крови контрольных и адреналэктомированных крыс, получавших ГАМК.

Методика. Опыты проведены на крысах самцах массой 150—200 г. ГАМК (гамма-аминомасляная кислота — аминалон) вводили внутримышечно в дозе 100 мг на 100 г массы в течение семи дней. Животных декапитировали спустя сутки после последней инъекции. Адреналэктомию осуществляли одномоментно под эфирным наркозом, крыс брали в опыт на восьмые сутки после операции. Контролем служили интактные крысы, получавшие в течение семи дней физиологический раствор, и ложнооперированные.

Содержание аланина, ГАМК и глутаминовой кислоты, а также определение глутаматдекарбоксилазной активности проводили как описано ранее [3]. Уровень кортикотропина в плазме крови устанавливали с помощью радиоиммунных наборов фирмы «Amersham» (Великобритания). Полученные данные обработаны статистически с применением критерия Стьюдента [6], непараметрического критерия Вилкоксона — Манна — Уитни и ранговой корреляции [1].

Результаты и их обсуждение. Введение экзогенной ГАМК крысам приводило к снижению суммарного содержания ГАМК в гипоталамусе, что сопровождалось уменьшением содержания «свободной» и «связанной» форм аминокислоты (табл. 1). Уровень ГАМК в гиппокампе при этом не изменялся. Экзогенная ГАМК не влияла на суммарное содержание и содержание «свободной» формы глутаминовой кислоты в изученных отделах, равно как и на уровень «связанной» формы глутаминовой кислоты в гиппокампе. Содержание «связанной» формы аминокислоты в гипоталамусе в этих условиях был снижен. Суммарное содержание аланина при введении ГАМК возрастало в гипоталамусе и гиппокампе за счет увеличения содержания «свободной» формы аланина.

Удаление надпочечников вызывало снижение суммарного содержания ГАМК в гиппокампе, суммарный уровень аминокислоты в гипоталамусе не изменялся (табл. 2). В то же время содержание «связанной» формы ГАМК было снижено в обоих исследованных отделах мозга. Введение экзогенной ГАМК адреналэктомированным крысам нормализовало лишь уровень «связанной» формы эндогенной ГАМК в гипоталамусе.

Адреналэктомия приводила к снижению суммарного содержания, а также содержания «свободной» формы глутаминовой кислоты в гиппокампе; содержание «связанной» формы аминокислоты не изменялось (табл. 3). В гипоталамусе при адреналэктомии не отмечено статистически достоверных изменений суммарного содержания и содержания «свободной» формы глутаминовой кислоты, тогда как содержание «связанной» — снижалось. Введение экзогенной ГАМК адреналэктомизированным крысам нормализовало выявленные изменения в суммарном содержании и содержании «свободной» формы в гиппокампе, содержании «связанной» формы аминокислоты в гипоталамусе; кроме того, наблюдалось повышение суммарного содержания глутаминовой кислоты в гипоталамусе.

Таблица 1. Содержание аминокислот в гипоталамусе и гиппокампе у крыс при введении ГАМК ($M \pm m$, мкмоль на 1 г ткани, $n=6$)

Отдел мозга	ГАМК		Глутаминовая кислота		Аланин	
	Физиологический раствор	ГАМК	Физиологический раствор	ГАМК	Физиологический раствор	ГАМК
Суммарное содержание						
Гипоталамус	$6,97 \pm 0,11$	$6,06 \pm 0,18^*$	$6,29 \pm 0,25$	$5,91 \pm 0,27$	$0,36 \pm 0,01$	$0,51 \pm 0,08^*$
Гиппокамп	$3,93 \pm 0,09$	$4,19 \pm 0,24$	$8,98 \pm 0,23$	$8,65 \pm 0,36$	$0,34 \pm 0,01$	$0,43 \pm 0,04^*$
Содержание «свободной» формы						
Гипоталамус	$5,52 \pm 0,09$	$4,78 \pm 0,18^*$	$4,97 \pm 0,25$	$4,91 \pm 0,25$	$0,27 \pm 0,01$	$0,40 \pm 0,02^*$
Гиппокамп	$3,12 \pm 0,08$	$3,33 \pm 0,15$	$7,49 \pm 0,20$	$6,99 \pm 0,31$	$0,23 \pm 0,01$	$0,33 \pm 0,03^*$
Содержание «связанной» формы						
Гипоталамус	$1,44 \pm 0,03$	$1,28 \pm 0,03^*$	$1,31 \pm 0,05$	$1,00 \pm 0,04^*$	$0,09 \pm 0,004$	$0,11 \pm 0,01$
Гиппокамп	$0,81 \pm 0,02$	$0,79 \pm 0,05$	$1,49 \pm 0,03$	$1,67 \pm 0,15$	$0,10 \pm 0,01$	$0,11 \pm 0,01$

*— $p < 0,05$

Таблица 2. Содержание ГАМК в гипоталамусе и гиппокампе крыс после адреналэктомии и введения ГАМК адреналэктомизированным крысам ($M \pm m$, мкмоль на 1 г ткани, $n=6$)

Отдел мозга	Ложная адреналэктомия	Адреналэктомия	Адреналэктомия + ГАМК
Суммарное содержание ГАМК			
Гипоталамус	$6,21 \pm 0,33$	$6,67 \pm 0,68$	$7,32 \pm 0,53$
Гиппокамп	$3,18 \pm 0,04$	$2,72 \pm 0,20^{**}$	$3,09 \pm 0,09$
Содержание «свободной» ГАМК			
Гипоталамус	$4,89 \pm 0,29$	$5,73 \pm 0,59$	$5,62 \pm 0,39$
Гиппокамп	$2,59 \pm 0,03$	$2,29 \pm 0,19$	$2,57 \pm 0,12$
Содержание «связанной» ГАМК			
Гипоталамус	$1,32 \pm 0,03$	$0,93 \pm 0,09^{**}$	$1,38 \pm 0,04^{***}$
Гиппокамп	$0,60 \pm 0,04$	$0,44 \pm 0,04^{**}$	$0,52 \pm 0,03$

— $p < 0,05$ по отношению к ложной адреналэктомии, *— $p < 0,05$ по отношению к адреналэктомии.

Содержание аланина в гипоталамусе и гиппокампе адреналэктомизированных крыс существенно не изменялось, за исключением снижения уровня «связанной» формы аминокислоты в гипоталамусе (табл. 3). Экзогенная ГАМК повышала суммарное содержание и содержание обеих форм аланина в гиппокампе, «связанной» формы аланина в гипоталамусе.

При исследовании глутаматдекарбоксилазной активности установлено повышение ее в гипоталамусе и гипофизе и снижение в гиппокампе

крыс при введении им ГАМК (табл. 4). Введение экзогенной аминокислоты значительно повышало ферментативную активность в изученных отделах мозга, сниженную вследствие удаления надпочечников.

Следовательно, введение ГАМК вызывало существенные изменения в содержании эндогенной ГАМК, глутаминовой кислоты и аланина, глутаматдекарбоксилазной активности в гипоталамусе, гиппокампе и гипофизе как интактных, так и адреналэктомированных крыс. Содержание кортикотропина в плазме крови крыс при введении ГАМК не менялось (табл. 5), тогда как введение ГАМК адреналэктомированным крысам значительно понижало уровень кортикотропина, повышенный после удаления надпочечников.

Таблица 3. Содержание глутаминовой кислоты и аланина в гипоталамусе и гиппокампе у крыс при адреналэктомии и последующем введении ГАМК ($M \pm m$, мкмоль на 1 г ткани, $n=6$)

Отдел мозга	Глутаминовая кислота			Аланин		
	Ложная адреналэктомия	Адреналэктомия	Адреналэктомия+ГАМК	Ложная адреналэктомия	Адреналэктомия	Адреналэктомия+ГАМК
Суммарное содержание						
Гипоталамус	6,45 $\pm$ 0,37	5,95 $\pm$ 0,52	7,21 $\pm$ 0,31***	0,70 $\pm$ 0,04	0,63 $\pm$ 0,05	0,68 $\pm$ 0,02
Гиппокамп	7,16 $\pm$ 0,29	6,14 $\pm$ 0,27**	7,16 $\pm$ 0,31***	0,71 $\pm$ 0,03	0,65 $\pm$ 0,04	0,82 $\pm$ 0,04***
Содержание «свободной» формы						
Гипоталамус	4,82 $\pm$ 0,31	4,54 $\pm$ 0,49	5,34 $\pm$ 0,24	0,48 $\pm$ 0,03	0,48 $\pm$ 0,04	0,48 $\pm$ 0,03
Гиппокамп	5,60 $\pm$ 0,23	4,79 $\pm$ 0,19**	5,80 $\pm$ 0,22***	0,54 $\pm$ 0,02	0,50 $\pm$ 0,03	0,64 $\pm$ 0,04***
Содержание «связанной» формы						
Гипоталамус	1,63 $\pm$ 0,06	1,40 $\pm$ 0,05**	1,88 $\pm$ 0,14***	0,22 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,01**	0,20 $\pm$ 0,01***
Гиппокамп	1,56 $\pm$ 0,06	1,35 $\pm$ 0,09	1,35 $\pm$ 0,09	0,17 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,01	0,18 $\pm$ 0,004***

Таблица 4. Влияние ГАМК на глутаматдекарбоксилазную активность в гипоталамусе, гиппокампе и гипофизе крыс ($M \pm m$, мкмоль ГАМК в 1 ч на 1 г ткани, $n=6$)

Отдел мозга	Физиологический раствор	ГАМК	Ложная адреналэктомия	Адреналэктомия	Адреналэктомия+ГАМК
Гипоталамус	54,7 $\pm$ 4,9	73,2 $\pm$ 2,0*	57,2 $\pm$ 1,7	42,9 $\pm$ 2,8**	56,3 $\pm$ 2,4***
Гиппокамп	36,0 $\pm$ 1,6	28,2 $\pm$ 1,3*	38,2 $\pm$ 2,4	32,7 $\pm$ 1,0**	45,1 $\pm$ 2,7***
Гипофиз	21,7 $\pm$ 0,9	32,8 $\pm$ 3,0*	23,1 $\pm$ 0,7	3,8 $\pm$ 1,4**	14,8 $\pm$ 1,5***

Установлено, что ГАМК при периферическом введении проникает в мозг, причем в первые минуты после внутрибрюшинного введения ее содержание в коре мозга значительно снижается, вследствие усиленного выделения аминокислоты из мозга. В то же время в гипоталамусе суммарное содержание ГАМК и уровень ее «свободной» формы увеличивается [2]. Ряд авторов, однако, считает, что проникновение ГАМК через гемато-энцефалический барьер в норме весьма незначительно, но резко возрастает при патологических состояниях или некоторых воздействиях на организм [4, 7].

Многokrатное введение ГАМК в наших экспериментах (табл. 1, 4) приводило к снижению содержания эндогенной ГАМК в гипоталамусе, при этом глутаматдекарбоксилазная активность в гипоталамусе значительно возрастала. В то же время в гиппокампе, наряду со снижением ферментативной активности, содержание ГАМК не изменялось. Таким

образом, изменения содержания ГАМК в различных отделах мозга при введении экзогенной ГАМК могут быть связаны не только с изменением баланса поступление/выведение аминокислоты, но и с влиянием экзогенной ГАМК на обмен эндогенной. Как и ранее [3], нами отмечено отсутствие корреляции между изменениями содержания ГАМК и глутаматдекарбоксилазной активности в изученных структурах мозга, что, возможно, обусловлено влиянием экзогенной аминокислоты на транспорт и другие стороны обмена эндогенной ГАМК. Обращает на себя внимание также различие в суммарном содержании и содержании «свободной» формы ГАМК в изученных отделах мозга, установленное в настоящих экспериментах (табл. 1, 2) и полученное ранее [3], что связано, по-видимому, с сезонными изменениями содержания и метаболизма ГАМК в мозге.

Таблица 5. Содержание кортикотропина в плазме крови крыс, получавших ГАМК (пмоль на 1 л, $M \pm m$, $n=5$)

Условия эксперимента	Содержание кортикотропина
Физиологический раствор	155,1 $\pm$ 30,1
ГАМК	136,0 $\pm$ 36,5
Ложная адrenaлэктомия	134,5 $\pm$ 27,9
Адреналэктомия	702,1 $\pm$ 98,4**
Адреналэктомия+ГАМК	288,9 $\pm$ 58,3***

Содержание предшественника ГАМК — глутаминовой кислоты — в гипоталамусе и гиппокампе у крыс при введении ГАМК существенно не изменялось, тогда как уровень аланина возрастал (табл. 1). Необходимо отметить, что введение ГАМК мышам снижало синтез глутамата и увеличивало синтез аланина из глюкозы, что связывают с влиянием ГАМК на энергетический обмен в мозге [10]. Влия на обмен ГАМК в гипоталамусе, гиппокампе и гипофизе (табл. 1, 4), экзогенная ГАМК, тем не менее, не вызвала по сравнению с контролем существенных изменений содержания кортикотропина в крови животных (табл. 5).

Гипокортицизм сопровождался снижением суммарного содержания и содержания «связанной» формы ГАМК в гиппокампе; в гипоталамусе снижался лишь уровень «связанной» формы. Глутаматдекарбоксилазная активность при этом была снижена во всех изученных отделах мозга (табл. 2, 4). Это согласуется с полученными нами ранее данными [3]. Содержание кортикотропина в крови адrenaлэктомизированных крыс возрастало более, чем в пять раз. Известно, что адrenaлэктомия вызывает повышение кортикотропной функции гипоталамо-гипофизарной системы; уровень кортикотропина возрастает не только в крови, но и в гипофизе; в гипоталамусе увеличивается содержание кортиколиберина [11, 13]. На этом фоне введение экзогенной ГАМК нормализовало содержание «связанной» формы ГАМК и величину глутаматдекарбоксилазной активности в гипоталамусе, повышало (но не до контрольных величин) ферментативную активность в гипофизе и снижало уровень кортикотропина в плазме. Между глутаматдекарбоксилазной активностью в гипофизе и содержанием кортикотропина в плазме наблюдалась обратная коррелятивная связь ($K=-1$). Экзогенная ГАМК нормализовала также суммарное содержание и содержание «свободной» формы глутаминовой кислоты в гиппокампе, содержание «связанной» форм аланина и глутаминовой кислоты в гипоталамусе, повышая при этом содержание аланина в гиппокампе (табл. 3). Таким образом, действие экзогенной ГАМК на содержание аминокислот и ферментативную активность в гипоталамусе, гиппокампе и гипофизе адrenaлэктомизированных крыс во многом сходно с влиянием ингибитора секреции кортикотропина ципрогептадина [3, 5].

При выяснении участия ГАМК в регуляции секреции тропных гормонов гипофиза некоторые авторы пришли к выводу, что ГАМК вклю-

чается в механизм регуляции лишь при состояниях, сопровождающихся повышенной активностью гипоталамо-гипофизарного комплекса [1, 14, 17]. В наших исследованиях в условиях недостатка гормонов надпочечников интенсивность синтеза ГАМК в гипоталамусе, гиппокампе и гипофизе, а также содержание «связанной» формы ГАМК в гипоталамусе снижены, что может быть одной из причин растормаживания механизма секреции кортикотропина [3]. Экзогенная ГАМК, поступая в мозг, нормализует обмен эндогенной аминокислоты и содержание ее предшественника — глутаминовой, тем самым восстанавливая дефицит медиатора — ингибитора секреции кортикотропина.

Следовательно, полученные данные подтверждают гипотезу о том, что ГАМК является ингибитором секреции кортикотропина [9, 14, 17] и, возможно, это имеет значение в механизме действия ГАМК на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему при некоторых формах гиперкортицизма.

T. M. Mishunina, V. Ya. Kononenko, E. V. Luchitsky

PARTICIPATION OF GAMMA-AMINOBUTYRIC ACID IN THE REGULATION OF CORTICOTROPIN SECRETION IN RATS

It is established in experiments on rats that a 7-day administration of gamma-aminobutyric acid (GABA) leads to a decrease in endogenous GABA content, «bound» form of glutamic acid in the hypothalamus and to an increase in the alanine level in the hypothalamus and hippocamp of intact animals. The adrenalectomy is accompanied by a decrease in the content of «bound» GABA form in both areas, «free» form of glutamic acid in the hippocamp «bound» form of glutamic acid and alanine in the hypothalamus. The GABA administration to adrenalectomized rats normalizes GABA and glutamic acid content in areas under examination and increases the level of both alanine forms in the hippocamp. When administering GABA the glutamate decarboxylase activity in the hypothalamus and hypophysis of intact rats increases and in the hippocamp this activity decreases. The amino acid administration to adrenalectomized rats increases the enzyme activity which was decreased as a result of adrenalectomy in all areas under study. GABA has no influence on the corticotropin level in blood plasma of intact animals and decreases the hormone level in adrenalectomized rats.

Institute of Endocrinology and Metabolism, Kiev

Список литературы

1. Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях.— Л.: Медицина, 1973.—141 с.
2. Казарян Б. А. Роль гамма-аминомасляной кислоты в обмене углеводов и аминокислот в мозге и периферических органах: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук.— Ереван, 1973.—30 с.
3. Кононенко В. Я., Мишунина Т. М. Содержание гамма-аминомасляной кислоты и глутаматдекарбоксилазная активность в мозге интактных и адrenaлэктомированных крыс при введении ципрогептадина.— Физиол. журн., 1983, 29, № 2, с. 200—206.
4. Мирзоян С. А., Татевосян А. Т., Геворкян Г. Я. Влияние гамма-аминомасляной и гамма-оксимасляной кислот на скорость включения ¹⁴С-лейцина в белки слизистой оболочки желудка и гипоталамуса.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1980, 80, № 9, с. 299—300.
5. Мишунина Т. М. Содержание аминокислот в различных отделах мозга крыс при изменении уровня кортикотропина в организме.— В кн.: Механизмы пластичности мозга: Материалы Всесоюз. симпоз. (29 сент. 1982 г.). Махачкала, 1982, 2, с. 35.
6. Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований.— Патол. физиология и эксперим. терапия, 1960, № 4, с. 76—86.
7. Сытинский И. А. Гамма-аминомасляная кислота в деятельности нервной системы.— Л.: Наука, 1972.—197 с.
8. Грубников Б. М. О некоторых методах лечения больных с гипоталамо-гипофизарным синдромом Иценко—Кушинга.— Журн. невропатологии и психиатрии, 1977, 77, № 4, с. 527—529.
9. Balestreri R., Bertolini S., Castello C. The neural regulation of ACTH secretion in man.— In: Neuroendocrinology: biological and clinical aspects. Genoa, 1979, 19, p. 155—185.