© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995

УДК 616.831.41+616.432+616.681]-008.6-02:547.466.3]-07

Е. В. Науменко, А. В. Амикишиева, Л. И. Серова

РОЛЬ ГАМК-А И ГАМК-Б-РЕЦЕПТОРОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА В МЕХАНИЗМЕ ОБРАТНОЙ ОТРИЦАТЕЛЬНОЙ СВЯЗИ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-СЕМЕННИКОВОГО КОМПЛЕКСА¹

Лаборатория генетических основ нейроэндокринной регуляции (зав. — проф. Е. В. Науменко) Института цитологии и генетики (дир. — акад. РАН В. К. Шумный) Сибирского отделения РАН, Новосибирск

Известно, что γ -аминомасляная кислота (ГАМК) является основным ингибирующим медиатором в центральной нервной системе и вовлекается в регуляцию многих аденогипофизарных гормонов, среди которых лютеинизирующий гормон не является исключением [4, 6, 7, 10, 11]. ГАМК может также непосредственно участвовать в регуляции гормонов передней доли гипофиза, поскольку в наружном слое срединного возвышения расположены нервные сплетения ГАМК-ергических нервных окончаний, из которых ГАМК может секретироваться в порталный кровоток [12]. В то же время в аденогипофизе имеются ГАМК-А и ГАМК-Б-рецепторы [2, 10, 13].

До последнего времени роль ГАМК в регуляции функции целостного гипоталамо-гипофизарно-семенникового комплекса (ГГСК) по механизму обратной отрицательной связи, насколько нам известно, не изучалась. Имеются лишь скудные данные о влиянии ГАМК головного мозга на секрецию люлиберина и лютеинизирующего гормона у крыс с двусторонней кастрацией [5, 14].

Недавно нами на односторонне кастрированных крысах было установлено, что ГАМК-ергические механизмы способны участвовать в регуляции компенсаторного повышения уровня тестостерона в периферической крови, вызванного удалением одного семенника [1]. Однако в этих опытах нельзя было дифференцировать роль в такой компенсации центральных и периферических ГАМК-ергических механизмов, поскольку агонисты и антагонисты ГАМК вводились внутрибрюшинно и могли действовать как на головной мозг, так и непосредственно на семенники. В настоящей работе с целью выяснения роли центральной ГАМК-ергической системы в механизмах регуляции ГГСК механизмом обратной отрицательной связи агонисты и антагонисты ГАМК вводили в боковой желудочек мозга.

Материалы и методы

В опытах использовали ложнопериовариальных и односторонне кастрированных крыс самцов линии Вистар массой 200–220 г. Животные выращены в виварии Института цито-

логии и генетики СО РАН при естественном освещении, пищу и воду получали без ограничений.

Крыс оперировали под нембуталовым наркозом (35 мг/кг), удаляя левый семенник, и декапитуировали через различные сроки после введения ГАМК-ергических препаратов или растворителя. У ложнопериовариальных животных делали только надрез мошонки длиной 1 см, на который затем накладывали шов.

Для повышения в головном мозге содержания ГАМК применяли ингибитор α -кетоглюкорат-ГАМК-трансаминазы — аминоксиуксусную кислоту (АОУК; "Sigma") в дозе 120 мг. Для понижения уровня ГАМК вводили ингибитор глутамат-декарбоксилазы — тиосемикарбазид (ТСК; "Sigma") в дозе 5 мг. Возбуждение ГАМК-А-рецепторов головного мозга осуществляли с помощью внутрижелудочкового введения мусцимола ("Sigma") в дозе 0,8 мг, а ГАМК-Б-рецепторов — с помощью баклофена ("Sigma") в дозе 5 мг. ГАМК-А-рецепторы блокировали метиловым бикакуллином ("Sigma") в дозе 1 мг, а ГАМК-Б-рецепторы — с помощью 2-гидроксисаклофена ("Research Biochem. Inc.") в дозе 15 мг. Все препараты растворяли в физиологическом растворе, саклофен предварительно растворяли в капле соляной кислоты (0,01 н.). Препараты вводили в боковой желудочек головного мозга через предварительно вживленные микрокапюли в объеме 10 мкл растворителя во время наибольшего снижения в периферической крови уровня тестостерона, вызванного удалением семенника.

В предварительных опытах дозы препаратов подбирали таким образом, что, оказывая выраженное действие после внутрижелудочкового введения, они не влияли на компенсаторное повышение в крови уровня тестостерона после внутрибрюшинного введения. Тем самым создавалась возможность изучения избирательного влияния вводимых ГАМК-ергических препаратов на центральную нервную систему.

Тестостерон в плазме периферической крови определяли радиоиммунологическим методом, применяя высокоспецифическую антигисыворотку и ³H-тестостерон ("Amersham"). Статистическую обработку результатов проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента с учетом неоднородности дисперсий в исследуемых группах.

Результаты и их обсуждение

Как и в предыдущих исследованиях [1], после удаления одного семенника уровень тестостерона в плазме периферической крови резко (в 1,5–3 раза) снижался, причем время максимального снижения было короче в летний сезон. Введение на пике снижения в боковой желудочек головного мозга ингибитора ГАМК-трансаминазы — АОУК, повышающей содержание ГАМК в центральной нервной системе, сопровождалось в последующие часы достоверным ускорением компенсаторного повышения в крови уровня мужского полового гормона. В то же время блокада синтеза ГАМК в головном мозге с помощью ТСК существенно не влияла на динамику уровня тестостерона в крови после гемикастрации, хотя имела

¹ Исследования, описанные в настоящей работе, частично были проведены благодаря гранту RAJ000, полученному от Международного научного фонда.

Таблица 1

Влияние изменения содержания ГАМК в головном мозге на компенсаторное повышение уровня тестостерона в крови после гемеикастрации

Препарат, доза	Время после кастрации, ч	Уровень тестостерона, нг/мл ($M \pm m$)	Число животных	p
Контроль	0	1,43 $\pm$ 0,29	11	<0,05*
	12	0,45 $\pm$ 0,02	6	
	24	1,00 $\pm$ 0,17	7	
АОУК, 120 мкг	24	2,22 $\pm$ 0,49	6	<0,05**
Контроль	0	1,48 $\pm$ 0,24	12	0,05*
	24	0,77 $\pm$ 0,26	13	
	36	1,68 $\pm$ 0,31	11	
ТСК, 5 мкг	36	1,04 $\pm$ 0,12	6	<0,09**

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3 одна звездочка — по сравнению с 0 ч, две — по сравнению с контролем в то же время.

Таблица 2

Влияние возбуждения и торможения ГАМК-А-рецепторов головного мозга на компенсаторное повышение уровня тестостерона в крови после гемеикастрации

Препарат, доза	Время после кастрации, ч	Уровень тестостерона, нг/мл ($M \pm m$)	Число животных	p
Контроль	0	1,04 $\pm$ 0,28	6	<0,05*
	24	0,38 $\pm$ 0,08	10	
	48	0,82 $\pm$ 0,12	9	
Мусцимол, 0,8 мкг	48	1,42 $\pm$ 0,25	7	<0,05**
Контроль	0	1,23 $\pm$ 0,23	7	<0,05*
	24	0,60 $\pm$ 0,11	13	
	48	1,42 $\pm$ 0,15	9	
Бикукуллин, 1 мкг	48	0,97 $\pm$ 0,05	7	<0,05**

Таблица 3

Влияние возбуждения и торможения ГАМК-Б-рецепторов головного мозга на компенсаторное повышение уровня тестостерона в крови после гемеикастрации

Препарат, доза	Время после кастрации, ч	Уровень тестостерона, нг/мл ($M \pm m$)	Число животных	p
Контроль	0	1,41 $\pm$ 0,24	12	0,05*
	24	0,77 $\pm$ 0,26	13	
	36	1,68 $\pm$ 0,31	11	
Баклофен, 5 мкг	36	0,71 $\pm$ 0,07	8	<0,05**
Контроль	0	-	-	0,05**
	12	0,20 $\pm$ 0,10	3	
	36	0,47 $\pm$ 0,07	3	
Саклофен, 15 мкг	36	0,81 $\pm$ 0,13	8	

место отчетливая тенденция к задержке скорости компенсации (табл. 1). Эти данные свидетельствуют о вовлечении в регуляцию ГГСК механизмов обратной отрицательной связи ГАМК головного мозга.

Дальнейшие эксперименты показали, что возбуждение разных типов ГАМК-рецепторов оказывает противоположное влияние на компенсаторные механизмы повышения в крови уровня тестостерона у односторонне кастрированных животных. Установлено, что активация ГАМК-А-рецепторов мусцимолем сопровождается, как

и внутрижелудочковое введение АОУК, увеличением компенсаторного повышения в крови уровня мужского полового гормона, пониженного гемеикастрацией (табл. 2). Действие мусцимола на ГАМК-А-рецепторы является специфичным, поскольку избирательный антагонист ГАМК-А-рецепторов бикукуллин действовал противоположным образом, блокируя компенсаторное повышение уровня тестостерона.

В отличие от ГАМК-А-рецепторов возбуждение ГАМК-Б-рецепторов после введения баклофена приводило к торможению компенсаторного повышения уровня тестостерона в крови, сниженного односторонней кастрацией. В то же время введение антагониста ГАМК-Б-рецепторов саклофена ускоряло компенсаторное восстановление уровня мужского полового гормона в крови после его снижения, вызванного удалением семенника (табл. 3).

Следовательно, ГАМК головного мозга принимает участие в регуляции ГГСК механизмом обратной отрицательной связи. При этом, по-видимому, ГАМК оказывает регулирующее влияние и в зависимости от того, какой тип рецепторов активируется, ГАМК-А или ГАМК-Б, происходит активация или торможение компенсаторного повышения уровня мужского полового гормона.

Поскольку ГАМК считается одним из основных ингибирующих медиаторов головного мозга, результаты, свидетельствующие об усилении компенсаторного посткастрационного повышения уровня тестостерона в крови после повышения содержания в головном мозге ГАМК или возбуждения ГАМК-А-рецепторов, являются несколько неожиданными. Однако известно, что в центральной нервной системе ГАМК может действовать не только как пост-, но и как пресинаптический ингибирующий нейромедиатор. Активация пресинаптических рецепторов понижает выделение аминов, нейропептидов и гормонов [4, 8], а также самой ГАМК через ауторецепторы [4, 8, 9]. Можно предположить, что в наших опытах ГАМК оказывала ингибирующее влияние на пресинаптические ауторецепторы ГАМК-А-типа [3, 8] и/или на нейроны, синтезирующие медиаторы, тормозящие ГГСК. Этим можно объяснить усиление компенсаторного повышения уровня тестостерона в крови после гемеикастрации. Естественно, такое предположение нуждается в более прямых доказательствах.

Нужно отметить, что, помимо головного мозга, ГАМК может действовать на уровне аденогипофиза, в котором имеются ГАМК-А- и ГАМК-Б-рецепторы, участвующие в выделении гонадотропных гормонов, и в опытах с внутрижелудочковым введением ГАМК-ергических препаратов нельзя полностью исключить их влияние через ГАМК-систему срединного возвышения и порталный кровоток [12] на гипофиз.

Выявленные центральные влияния агонистов и антагонистов коренным образом отличаются от их эффектов, выявленных в опытах с внутрибрюшинным введением ГАМК-ергических препаратов [1]. Возбуждение ГАМК-А-рецепторов на периферии или повышение в организме содержа-

ния ГАМК сопровождалось ингибированием механизма обратной отрицательной связи. В то же время активация ГАМК-Б-рецепторов внутрибрюшинным введением баклофена или снижение в организме содержания ГАМК путем внутрибрюшинного введения ТСК приводили к активации этого механизма. Следовательно, результаты, полученные в настоящей и предыдущей работах [1], свидетельствуют об участии в регуляции ГГСК механизмом обратной отрицательной связи двух ГАМК-ергических систем, центральной и периферической, действующих в значительной мере независимо одна от другой.

Выводы

1. ГАМК-ергические механизмы головного мозга участвуют в регуляции функции ГГСК механизмом обратной отрицательной связи.

2. Повышение содержания ГАМК в головном мозге сопровождается активацией компенсаторного повышения уровня тестостерона, вызванного односторонней кастрацией.

3. Возбуждение ГАМК-А-рецепторов вызывает стимуляцию, а их блокада — торможение компенсаторного повышения уровня тестостерона в крови после гемикастрации.

4. Возбуждение ГАМК-Б-рецепторов центральной нервной системы сопровождается торможением, а их блокада — стимуляцией уровня мужского полового гормона в крови после односторонней кастрации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Науменко Е. В., Жукова А. В., Серова Л. И. // Пробл. эндокринолог. — 1995. — № 2. — С. 30-32.
2. Anderson R. A., Mitchell R. // J. Endocr. — 1986. — Vol. 108. — P. 1-8.
3. Bowers N. // TIPS Rev. — 1989. — Vol. 10. — P. 401-407.

© Я. Ю. ЧУРСИНА, Д. Н. ХУДАВЕРДЯН, 1995

УДК 616.1-008.1-02:615.357:577.175.471-07

Я. Ю. Чурсина, Д. Н. Худавердян

ВЛИЯНИЕ ПАРАТИРЕОИДИНА НА СОПРОТИВЛЕНИЕ МОЗГОВЫХ СОСУДОВ

Кафедра нормальной физиологии (зав. — доктор мед. наук Д. Н. Худавердян) Ереванского медицинского института

Проблема фармакологической коррекции расстройств гемодинамики в клинике сердечно-сосудистых заболеваний с созданием адекватных терапевтических схем, индивидуально учитывающих патогенетические механизмы, лежащие в их основе, привлекает внимание многих исследователей. В настоящее время известна важная роль кальция и гормональной системы его регуляции в развитии гипертензии и сопровождающих ее расстройств коронарного и мозгового кровообращения [4]. Показана непосредственная связь нарушенного при недостаточности околощитовидных желез кальциевого обмена с кальцийзависимыми процессами в тромбоцитах и сосудистой стенке, обуславливающая сдвиги тром-

4. De Koning H. P., Jenks B. G., Roubos E. W. // Endocrinology. — 1993. — Vol. 132. — P. 674-681.
5. Donoso A. O. // Neuroendocrinology. — 1988. — Vol. 48. — P. 1-8.
6. Jones M. T., Gillman B., Altaf A. R. H. et al. // Psychoendocrinology. — 1984. — Vol. 9. — P. 107-123.
7. Massoto C., Wisniewski G., Negro-Vilar A. // Endocrinology. — 1989. — Vol. 125. — P. 548-553.
8. Matsumoto R. // Brain Res. Rev. — 1989. — Vol. 14. — P. 203-225.
9. Mitchell R., Martin I. L. // Nature. — 1978. — Vol. 274. — P. 904-905.
10. Racagni G., Apud J. A., Cocchi D. et al. // Life Sci. — 1982. — Vol. 31. — P. 298-304.
11. Scotch J., Clarke I. J. // Endocrinology. — 1993. — Vol. 133. — P. 2904-2912.
12. Tappaz M. L., Oertel W. H., Wassef M. et al. // Progr. Brain Res. — 1982. — Vol. 55. — P. 77-95.
13. Vincent S. R., Hokfelt T., Wu J. Y. // Neuroendocrinology. — 1982. — Vol. 35. — P. 298-304.
14. Wilson C. A., James M. D., Leigh A. J. // Ibid. — 1990. — Vol. 52. — P. 354-360.

Поступила 12.01.95

Ye. V. Naumenko, A. V. Amikishiyeva, L. I. Serova — ROLE OF GABA-A AND GABA-B RECEPTORS OF THE BRAIN IN THE HYPOTHALAMO-PITUITARY-TESTICULAR REGULATION BY THE NEGATIVE FEEDBACK MECHANISM

Summary. The role of gamma-aminobutyric acid (GABA) of the brain and its receptors in the hypothalamo-pituitary-testicular (HPT) regulation by the negative feedback mechanism was for the first time studied in sham-operated and unilaterally castrated adult Wistar rats. Increased level of GABA in the central nervous system following an injection of GABA transaminase inhibitor, aminoacetic acid, into the lateral ventricle of the brain was associated with activation of a compensatory increase of testosterone level in the blood, caused by unilateral castration. GABA effect is mediated through the receptors. Muscimol stimulation of GABA-A receptors of the central nervous system activated and their blocking with bicucullin inhibited a compensatory increase of testosterone level in the blood caused by hemicastration. Baclofen stimulation of cerebral GABA-B receptors was associated with an inhibition and their saclofen blocking with stimulation of the level of male sex steroid hormone in the blood following unilateral castration. A conclusion is made about participation of GABAergic mechanisms of the brain in the regulation of HPT function via the negative feedback mechanism.

боцитарно-сосудистого гомеостаза в условиях цереброваскулярной патологии [7]. Данные литературы свидетельствуют о гипотензивном характере действия паратгормона (ПТГ) на уровне как центральной гемодинамики [2, 16], так и регионального кровотока (почечного, легочного, мезентериального) [13, 16]. Описано его положительное влияние при сердечной недостаточности [3]. В связи с изложенным представляло интерес выяснение возможной роли ПТГ в регуляции мозгового кровообращения. Ранее нами было изучено действие ПТГ на вход $^{45}\text{Ca}^{2+}$ в изолированные сегменты основной артерии [5]. В настоящей работе изучали изменение сопротивления