

АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР
ОТДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

14905

На правах рукописи

А. А. ГАЛОЯН

**Регуляция нейросекреции и гормоны
гипоталамо-нейрогипофизарной
системы**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

ЕРЕВАН — 1964

Копия учета - [illegible]



АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР
ОТДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

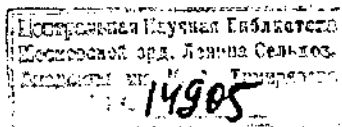
На правах рукописи

А. А. ГАЛОЯН

Регуляция нейросекреции и гормоны
гипоталамо-нейрогипофизарной
системы

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук



ЕРЕВАН — 1964

Работа выполнена в лаборатории биохимии гормонов Института биохимии АН АрмССР.

Научный консультант—академик АН АрмССР, доктор биол. наук
профессор Г. Х. БУНЯТЯН

Официальные оппоненты:

Член-корреспондент АН УССР, доктор биологических наук,
профессор А. М. УТЕВСКИЙ

Член-корреспондент АН АрмССР, доктор медицинских наук,
профессор С. А. МИРЗОЯН

Доктор биологических наук
профессор Н. Н. ДЕМИН

Диссертация представлена в ученый совет Отделения биологических наук Академии наук Армянской ССР.

Защита состоится 1964 г.

Отзывы на автореферат направлять по адресу: г. Ереван-19, ул. Барекамутия, № 24, Академия наук АрмССР, Отделение биологических наук.

ВВЕДЕНИЕ И ГЛАВА I

Вентральная часть промежуточного мозга—гипоталамус является важным звеном нейро-гуморальной регуляции функций организма.

В настоящее время не вызывает сомнений, что гипоталамус принимает участие во многих физиологических и нейро-биохимических процессах, играя важнейшую роль в поддержании постоянства внутренней среды.

Гипоталамо-нейрогипофизарная система является связывающим звеном в осуществлении влияния высших отделов центральной нервной системы на эндокринную и другие функции организма. Эта система свои многогранные функции осуществляет под регулирующим влиянием высших отделов центральной нервной системы, с которыми она морфологически и функционально тесно связана.

Характерной особенностью гипоталамуса является наличие в нем многочисленных ядер, в том числе и нейросекреторных (продуцирующих полипептидные гормоны). Нервным и гуморальным путем эти ядра оказывают регулирующее влияние на гормональный обмен аденогипофиза.

По своим морфо-функциональным и биохимическим особенностям нейросекреторные клетки отличаются от других нейронов мозга. Они являются как бы модифицированными нейронами, имеющими с одной стороны нейронные, а с другой железисто-эндокринные свойства. В них сосредоточены как медиаторы нервного импульса, так и гормональные вещества. В гипоталамусе (по-видимому, в этих нейронах) в наибольших количествах имеются медиаторы нервной активности: ацетилхолин, порадреналин, гистамин, серотонин, а также вещества, оказывающие влияние на нервную активность, как гамма-аминомасляная кислота, вещество Р и т. д. Гипоталамус спе-

циализирован в выработке целого ряда биологически активных полипептидных соединений, играющих важную роль в регуляции функции аденогипофиза и ряда других функций организма.

Многочисленные исследования отечественных и зарубежных авторов посвящены изучению физиологии (И. П. Павлов, Л. А. Орбели, Д. А. Сперанский, К. М. Быков, И. А. Эскин, П. К. Анохин, И. Т. Курциш, Н. И. Гращенко, Г. Н. Кассиль, А. В. Тонких, Б. В. Алешин, М. С. Кахаца, Kurotsu, Hess, Verney, Kovács, Lissak, Ranson, Schreiber, Himwich, Magoun, Harris, Pickford, Helfer, Green, Dell и др.), морфологии (Л. Я. Пинес, А. А. Войткевич, А. Л. Поленов, И. Г. Акмаев, Krieg, Clark, Scharrer, Hild, Zetler, Laveque, Bargmann), биохимии (Dudley, Kamm, Van Dyke, Page, Acher, Li, Guillemin, Saffran, Du Vigneaud и др.), а также роли нейросекреции гипоталамо-нейрогипофизарной системы в регуляции функции организма (А. А. Войткевич, И. Л. Гербицкий, Е. А. Моисеев, А. В. Зайцев, Е. И. Тараканов, Е. И. Зубкова, В. Ф. Майорова и др.). Тем не менее многие вопросы, касающиеся интимных сторон гипоталамической регуляции функций организма остаются невыясненными. Весьма мало изучена биохимия гипоталамо-нейрогипофизарной системы, характеризующаяся рядом специфических сторон метаболизма.

Недостаточно изучены полипептидные гормоны, продуцируемые нейросекреторными клетками, а также значение нейросекреции в регуляции многих функций организма. В литературе отсутствуют данные о взаимодействии между разными нейрогуморальными агентами, столь богато представленными в гипоталамусе, и о роли последних в образовании и транспорте гормонов гипоталамо-нейрогипофизарной системы.

Наши исследования проводились по следующим направлениям:

1) Специфическое влияние различных нейрогуморальных агентов на образование и транспорт нейросекреторного вещества в микроструктурах гипоталамо-нейрогипофизарной системы;

2) Взаимоотношения различных нейрогуморов в микроструктурах гипоталамуса в отношении нейросекреции;

3) Значение нейросекреции в эндокринной цепи—адено-гипофиз—надпочечники;

4) Выделение новых полипептидных гормонов из гипоталамо-нейрогипофизарной системы.

В первой главе, озаглавленной «Морфо-биохимические особенности гормонообразовательной функции гипоталамо-нейрогипофизарной системы», рассматриваются следующие вопросы:

1. Основные данные по морфологии гипоталамо-гипофизарной системы.

2. Нейросекреция и гормоны.

3. Химическая природа нейросекрета, гормонов, входящих в его состав, и биологически активные соединения гипоталамо-нейрогипофизарной системы.

ГЛАВА II

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

РОЛЬ НЕПРОГУМОРАЛЬНЫХ АГЕНТОВ В МЕХАНИЗМЕ ОБРАЗОВАНИЯ И ТРАНСПОРТА НЕПРОСЕКРЕТА В ГИПОТАЛАМО-НЕЙРОГИПОФИЗАРНОЙ СИСТЕМЕ

1. Влияние ацетилхолина на образование и транспорт нейросекрета из супраоптических и паравентрикулярных ядер гипоталамуса в нейрогипофиз

Следует отметить, что в литературе отсутствуют прямые данные об изменении нейросекреции в зависимости от системы ацетилхолин-холинэстераза.

Методика исследования

Опыты проводились на белых крысах самцах весом 180—200 г. В первой серии опытов под гексеналовым наркозом раздражали центральный концев блуждающего нерва индукционным током с перерывами в течение 10 минут. Расстояние катушки от первичной обмотки было 6 см. Напряжение в

ценн—6 вольт. Во второй серии опытов мы испытывали влияние ингибитора ацетилхолинэстеразы — вещества 62.C.47 (1: 5-бис-(4-триметиламмониум-фенил) пентаи-3-он-дионид) в концентрации 10^{-4} М 2 мл. В вышеотмеченной концентрации вещество 62.C.47 ингибирует истинную холинэстеразу (Perlef, Pearse, 1957). Ингибитор вводили в сонную артерию крысы с помощью специальной канюли по методу, разработанному нами. Через 10—15 минут после введения животных быстро декапитуировали. Гипоталамус и гипофиз фиксировали в жидкости Буена в течение 2—3 суток, проводили парафинизацию и на серийных срезах толщиной 4—5 микрон (гипофиз) и 7 микрон (гипоталамус) гистохимическим методом выявляли нейросекрет по методу Гомори (Gomori, 1941). Ряд опытов проводили данной методикой, видоизмененной А. Л. Поленовым (1958).

Результаты опытов

Как в паравентрикулярном, так и в суправентрикулярном ядрах в составе нейросекреторных клеток в норме встречаются клетки, в которых невозможно различить ядро, цитоплазму и ядрышко. Количество этих дегенерировавшихся клеток небольшое. После раздражения центрального конца блуждающего нерва число дегенерировавшихся клеток заметно увеличивается. Некоторые большие светлые нейросекреторные клетки теряют нормальное строение, сглаживаются границы между ядром, цитоплазмой и ядрышком. Клетки становятся как бы гомогенными. Однако в цитоплазме клеток, а также в нейрогипофизе количество нейросекрета заметно увеличивается. Некоторые клетки полностью заполняются нейросекретом. Величина нейросекреторных гранул нейрогипофиза резко уменьшается (они пылевидно распределены по всей поверхности нейрогипофиза); что свидетельствует также об изменении физико-химических свойств нейросекреторного вещества.

Опыты показали, что вещество 62.C.47 также, но в меньшей степени, воспроизводит эффект раздражения блуждающего нерва. Наши опыты по сравнительному изучению влияния раздражения блуждающего нерва, ингибитора ацетилхолинэстеразы, а также прямого введения самого ацетилхолина

в цистерну показали, что характерное изменение нейросекреции в гипоталамо-нейрогипофизарной системе, описанное выше, вызывает сам ацетилхолин.

Таким образом, можно полагать, что ацетилхолин способствует образованию и транспорту нейросекрета в гипоталамо-нейрогипофизарной системе.

2. Изменения нейросекреторной функции гипоталамо-нейрогипофизарной системы под влиянием гистамина и некоторые стороны механизма его влияния

Согласно данным Гарриса и Якобсона (Harris, Jacobson, 1952) наибольшее количество гистамина в мозге сосредоточено в гипоталамусе.

Предположения о возможности влияния гистамина на нейросекреторные процессы не лишены некоторого основания, если учесть, что гистамин вызывает изменения количества эозинофилов (Halpern, Benos, 1951), и антидиуретического гормона (Mirsky et al., 1954).

Методика и результаты исследования

Гистамин вводили в сонную артерию из расчета 0,16 мг на 100 г веса. Опыты проводили под гексеналовым наркозом. Внутрицистернально вводили гистамин 0,1 мг на целое животное. Как при введении в сонную артерию, так и при внутрицистернальном введении, животных декапитировали через 10—15 минут и выявляли нейросекрет в микроструктурах гипоталамо-нейрогипофизарной системы.

Под действием гистамина в супраоптическом и паравентрикулярном ядрах наблюдается уменьшение нейросекрета, в основном, в супраоптическом ядре. В нейрогипофизе количество нейросекрета резко уменьшается и в большинстве случаев наблюдается его полное отсутствие.

Другая картина наблюдается в нейросекреторных ядрах гипоталамуса при внутрицистернальном введении гистамина. В цитоплазме клеток супраоптического ядра полностью отсутствуют нейросекреторные гранулы, которые не обнаруживаются также и во внеклеточном пространстве.

В нейрогипофизе нейросекреторные гранулы просветляются, а центральные части тела Геринга окрашиваются бледно. Однако при внутрицистернальном введении гистамина полного исчезновения нейросекрета не наблюдается.

Можно полагать, что гистамин проникает через гематоэнцефалический барьер в мозг и способствует в основном выделению нейросекреторного вещества в кровь.

Учитывая характерное влияние АЦХ на нейросекрецию, а также то, что синапсы центральной нервной системы, в основном являются холинэргическими, мы предположили возможное участие системы ацетилхолин-холинэстеразы в эффекте влияния гистамина на нейросекрецию.

Через 15—20 минут после введения гистамина вместе с нашей сотрудницей Р. Ф. Манасян определяли активность ацетилхолинэстеразы в микроструктурах гипоталамуса по методу Келла и Фриденвальда (Kelle and Friedenwald, 1949) в модификации Жеребцова (Gerebtzoff, 1956).

Наши исследования, а также литературные данные показывают, что в гипоталамусе содержится в основном ацетилхолинэстераза. Наибольшее количество холинэстеразы сосредоточено в ядрах заднего гипоталамуса вблизи от третьего желудочка и в супраоптическом ядре. В паравентрикулярном ядре с трудом можно отличить нейроны, в то время как хорошо видны сосуды, в основном сосуды большого калибра. Следует отметить, что сосуды в супраоптическом ядре окрашиваются весьма слабо, а нейроны этого ядра выявляются хорошо.

Под влиянием гистамина холинэстеразная активность повышается в супраоптическом ядре и в нейронах заднего гипоталамуса. Повышение холинэстеразной активности во всех нейронах супраоптического ядра не однозначно.

Результаты этих исследований показывают, что гистамин оказывает свое влияние на нейросекрецию, по-видимому, путем уменьшения количества ацетилхолина в нейронах гипоталамуса.

Выяснение механизма активирования ацетилхолинэстеразы гипоталамических ядер под действием гистамина требует дальнейших исследований.

Однако результаты наших исследований показывают, что в механизме влияния гистамина на нейросекрецию гипоталамо-нейрогипофизарной системы важное место занимает система ацетилхолин-холинэстераза.

3. Изменение нейросекреторной функции гипоталамо-нейрогипофизарной системы под влиянием гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) и некоторые стороны ее влияния

ГАМК принимает участие в возникновении тормозного процесса центральной нервной системы. ГАМК приписывается также ганглиоблокирующее действие (Stanton and Woodhouse, 1959). Однако интимные стороны механизма ее влияния неизвестны.

В литературе имеются данные, свидетельствующие, что специфическое влияние ГАМК на нервную активность обусловливается ее воздействием на мембранные структуры нейронов и синапсов. За последние годы Г. Х. Бунятяном и его сотрудниками проведены многочисленные исследования по изучению влияния ГАМК и родственных ей соединений (Бунятян, 1960, 1961, Мовсесян, 1961, Галоян и др. 1962) на проницаемость различных тканей в отношении глюкозы и на активность отдельных ферментативных систем. Эти исследования показали, что ГАМК, как и инсулин, значительно ускоряет транспорт глюкозы в мышечную и хрящевую ткани. Проведены многочисленные исследования по выяснению влияния ГАМК на отдельные биохимические процессы мозговой ткани. Г. Х. Бунятяном развивается мысль о трофической роли ГАМК в мозгу.

Мы исследовали влияние ГАМК и β -аланина на нейросекрецию гипоталамо-нейрогипофизарной системы после их внутрибрюшинного или внутрикаротидного введения. Введение этих веществ в сонную артерию мы проводили под гексеналовым наркозом.

ГАМК, а также β -аланин вводили в сонную артерию в количестве 1 мг, внутрибрюшинно—1—2 мг. После внутриар-

теринального введения ГАМК и β -аланина животных декаптитировали через 10—15 минут, внутрибрюшинного—через 20—25 минут.

В зависимости от путей введения ГАМК и β -аланина они оказывают различное воздействие на нейросекрецию гипоталамо-нейрогипофизарной системы. Так, например, после внутрибрюшинного введения этих веществ, количество нейросекреторных гранул уменьшается в основном в нейрогипофизе. При введении в сонную артерию, как ГАМК, так и β -аланин увеличивают количество нейросекреторных гранул.

Не исключена возможность участия системы ацетилхолин-холинэстераза в осуществлении влияния ГАМК на нейросекрецию. После введения ГАМК в количестве 1 мг в сонную артерию в большинстве случаев мы отмечаем резкое подавление холинэстеразной активности в нейронах супраоптического ядра. Наряду с этим, отмечается повышение активности холинэстеразы в сосудах, обволакивающих нейроны. В нейронах средне-латерального гипоталамуса хорошо выявляются как сосуды, так и нейроны. Здесь даже отмечается повышение холинэстеразной активности. Полученные данные безусловно свидетельствуют о специфическом влиянии ГАМК на нейросекреторные клетки.

При внутримозговом введении ГАМК не оказывает такого глубокого подавляющего влияния на ацетилхолинэстеразную активность гипоталамических ядер, как при ее интракаротидном введении.

В настоящее время имеется ряд косвенных и прямых фактов, указывающих на проникновение ГАМК через гемато-энцефалический барьер в мозг (Галоян, 1960; Marrazzi et al., 1958; Wood et al., 1963 и др.), но при оценке полученных результатов нельзя не считаться также с непрямым рефлекторным влиянием ГАМК. Вопрос о механизме влияния ГАМК на нейросекрецию и на ацетилхолинэстеразную активность остается открытым. Однако полученные нами результаты свидетельствуют о том, что, по-видимому, ГАМК оказывает свое влияние на нейросекрецию через систему ацетилхолин-холинэстераза.

4. Специфические стороны влияния адреналина, норадреналина и серотонина на нейросекреторную функцию гипоталамо-нейрогипофизарной системы

В гипоталамусе в наибольших количествах обнаружен норадреналин (Vogt, 1954, Утевский, Осипская, 1962) и серотонин (Twarog, Page, 1953). Однако физиологическое значение каждого из этих медиаторов окончательно не выяснено. Адренэргической системе придают важное значение в регуляции АКТГ функции.

Что касается серотонина, то ряд работ говорит в пользу того, что серотонин (Gaddum and Clerman, 1956; Marrazzi and Hart, 1955; Sfater et al, 1955) может быть центральным синаптическим медиатором. Полагают, что серотонин является химическим передатчиком центральных парасимпатических импульсов, а норадреналин — передатчиком центральных симпатических импульсов (Vogt, 1954).

Адреналин и норадреналин мы вводили крысам внутривенно в количестве 2—3 и 10—20 мкг на 100 г веса, а серотонин—10 мкг и диэтиламид лизергереновой кислоты 10—17 мкг на целое животное.

Результаты опытов

При введении 3—10 мкг адреналина на 100 г веса животного, количество нейросекрета в нейрогипофизе несколько уменьшается. Норадреналин в отмеченных концентрациях умеренно увеличивает количество нейросекрета в нейрогипофизе.

В супраоптическом и паравентрикулярном ядрах увеличивается число «темных» клеток, а также количество нейросекреторного вещества во внеклеточном пространстве.

Под влиянием норадреналина (10 мкг на 100 г) количество нейросекреторного вещества заметно увеличивается в цикломорфных клетках супраоптического ядра (где в норме оно почти не обнаруживается). Это явление обнаруживается также при внутримышечном введении норадреналина. Можно полагать, что норадреналин имеет особое отношение к нейросекретии определенных клеток гипоталамических ядер.

Опыты показали, что серотонин в отмеченных дозах уменьшает количество нейросекреторного вещества в гипоталамо-нейрогипофизарной системе. Обнаруживается ряд характерных цитологических изменений в нейросекреторных ядрах.

Диэтиламид лизергеновой кислоты (LSD_{25}), который активирует центральную симпатическую передачу (Elkes and Brodley, 1954), наоборот, способствует увеличению количества нейросекреторного вещества.

Полученные данные свидетельствуют о том, что одной из сторон характерного влияния серотонина и его антагониста диэтиламида лизергеновой кислоты (LSD_{25}) являются изменения в нейросекреции.

Наши исследования по влиянию адреналина и норадrenalина на ацетилхолинэстеразную активность нейронов гипоталамуса не обнаружили видимых сдвигов в содержании этого фермента в микроструктурах как переднего, так и заднего гипоталамуса.

Полученные факты дают основание считать, что по крайней мере в отношении нейросекреции передне-гипоталамических ядер, определенные нейрогуморальные агенты могут действовать как через систему ацетилхолин-холинэстераза (гистамин, ГАМК), так и другим путем (адреналин, норадrenalин, серотонин). С другой стороны они свидетельствуют о трофическом значении нейрогуморальных агентов в отношении нейросекреторных клеток.

Не исключена возможность, что нейрогуморальные агенты оказывают влияние на гормональный обмен аденогипофиза, на процессы химической регуляции функций организма гипоталамусом через образование и транспорт полипептидных гормонов гипоталамо-нейрогипофизарной системы.

В свете полученных нами данных мы считаем не случайным, что адреналин, норадrenalин, гистамин и ацетилхолин, по данным Гиймена (Guillemin), в условиях *in vitro* не оказывают влияния на гормональный обмен аденогипофиза. Весьма примечательно, что добавление экстрактов гипоталамуса или нейрогипофиза в инкубационную среду способствует образованию АКГГ аденогипофизом, а медиаторы активируют этот процесс.

**ФУНКЦИОНАЛЬНО-БИОХИМИЧЕСКИЕ СДВИГИ
В НЕЙРО-ЭНДОКРИННЫХ ЗВЕНЬЯХ ОРГАНИЗМА
В СООТВЕТСТВИИ С ИЗМЕНЕНИЯМИ
НЕЙРОСЕКРЕЦИИ**

**1. О наличии кортикотропнн стимулирующего фактора
в переднем гипоталамусе**

Одним из важных и универсальных показателей реакции приспособления к различным воздействиям является изменение содержания адренкортикотропного гормона в крови.

Как известно, адренкортикотропная функция аденогипофиза также подчиняется гипоталамической регуляции. В этом отношении количество адренкортикотропного гормона в определенной степени может охарактеризовать состояние гипоталамо-нейрогипофизарной системы.

Считают, что из гипоталамуса поступает полипептид, оказывающий стимулирующее влияние на выделение АКТГ аденогипофизом.

Нас интересовал вопрос изменения АКТГ функции гипоталамо-гипофизарной системы под влиянием различных нейрогуморальных агентов, оказывающих специфическое влияние на нейросекрецию.

Для решения вышеотмеченных вопросов необходимо выяснить, в каком отделе гипоталамуса локализован кортикотропнн стимулирующий фактор. По этому вопросу имеются разноречивые данные.

Методика и результаты опытов

Белковые экстракты из переднего и заднего гипоталамуса получали по методу Шлуссера и Роберта (Schlusser and Roberts, 1954). Полученный экстракт сразу вводили крысам на расчете 0,2 мл на 100 г веса внутрибрюшинно и через 2 часа после быстрого обезглавливания, извлекали оба надпочечника, гомогенизировали и определяли количество аскорбино-

ной кислоты подометрическим методом по Мозингеру (Mosinger et al., 1959).

Количество аскорбиновой кислоты в надпочечниках у контрольных крыс составляло в среднем 521 и 539 мг% в левом и правом надпочечниках соответственно.

Через два часа после внутривнутрибрюшинного введения диализованного экстракта из переднего гипоталамуса (белковая фракция) в обоих надпочечниках количество аскорбиновой кислоты падает, составляя в левом и правом надпочечниках 397 мг% ($P < 0,01$).

Введение экстракта из заднего гипоталамуса крыс не вызывает никакого изменения в количестве аскорбиновой кислоты в обоих надпочечниках (табл. 1).

Таблица 1
Изменение количества аскорбиновой кислоты (мг %) в надпочечниках крыс при введении белкового экстракта из переднего и заднего гипоталамуса

Контроль	Влияние экстракта переднего гипоталамуса	Влияние экстракта заднего гипоталамуса
пр. 539 ± 84,13 (5)	пр. 397 ± 19,26 (6) $p < 0,01$	пр. 516 ± 13,75 (6) $p < 0,3$
лев. 521 ± 51,97 (5)	лев. 397 ± 32 (6) $p < 0,01$	лев. 533 ± 70,54 (6) $p < 0,7$

Полученные результаты показывают, что именно экстракт переднего гипоталамуса крыс приводит к значительному падению количества аскорбиновой кислоты в надпочечниках, что свидетельствует о наличии кортикотропин-стимулирующего фактора (CRF) в переднем гипоталамусе.

2. Влияние гистамина, адреналина и норадреналина на АКТГ функцию аденогипофиза

Сказываются ли изменения нейросекреторного процесса под влиянием гистамина и других нейрогуморов на кортикотропин-стимулирующей функции?

Количество аскорбиновой кислоты в обоих надпочечниках у контрольных крыс при гексеналовом наркозе составляет в среднем 300, 286 мг% в правом и левом надпочечниках соответственно, т. е. гексенал способствует понижению содержания аскорбиновой кислоты в надпочечниках.

Несмотря на это, гистамин, введенный на этом фоне, в подавляющем большинстве случаев уменьшает количество аскорбиновой кислоты в среднем до 243 и 250 мг% (статистически достоверно). Резкое уменьшение аскорбиновой кислоты наблюдается при введении гистамина внутривенно (табл. 2).

Таблица 2
Изменение количества аскорбиновой кислоты в надпочечниках крыс при внутривенном и внутривартоидном введении гистамина

Внутривартоидно		Внутривенно	
контроль	опыт	контроль	опыт
пр. 300 ± 23,02 (15)	пр. 243 ± 53,65 (19) p < 0,01	пр. 525 ± 77,82 (5)	пр. 351 ± 23,14 (13) p < 0,01
лев. 286 ± 67,36 (15)	лев. 250 ± 45,45 (20) p < 0,05	лев. 542 ± 20,83 (5)	лев. 373 ± 92,6 (13) p < 0,01

Результаты наших исследований показывают, что исчезновение нейросекреторного вещества под действием гистамина сопровождается уменьшением количества аскорбиновой кислоты в надпочечниках, что свидетельствует о связи кортикотропин стимулирующего фактора с нейросекреторным веществом.

Опыты показали, что при внутривартоидном введении адреналина и норадреналина в дозах, вызывающих изменения нейросекреции, в обоих надпочечниках крыс количество аскорбиновой кислоты повышается. Количество аскорбиновой кислоты у контрольных животных при внутривартоидном введении физиологического раствора в правом и левом надпочечниках составляет в среднем 285 и 286 мг% соответственно.

Т а б л и ц а 3

Влияние норадrenalина на количество аскорбиновой кислоты при внутрикaротидном, внутриваpшинном и внутриваcтернальном введении

Внутрикaротидно		Внутриваcтернально		Внутриваpшинно	
контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
пр. 285 ± 62,56 (14)	пр. 417 ± 13,56 (8) p < 0,01	пр. 413 ± 45,5 (6)	пр. 535 ± 37 (8) p = 0,005	пр. 507 ± 32,44 (3)	пр. 421 ± 82,02 (8) p > 0,01
л. 266 ± 13,56 (14)	л. 429 ± 21,12 (8) p < 0,01	л. 433 ± 63,3 (6)	л. 541 ± 31,7 (7) p = 0,01	л. 482 ± 40,07 (3)	л. 420 ± 77,98 (8) p < 0,01

При введении же норадреналина—417, 429 мг% ($p < 0,01$). По средним данным, количество аскорбиновой кислоты в правом и левом надпочечниках у контрольных животных при внутрибрюшинном введении физиологического раствора составляет 443, 433 мг% соответственно, после введения норадреналина—541, 535 мг%. Внутрибрюшинное введение норадреналина вызывает снижение количества аскорбиновой кислоты в правом надпочечнике, в левом—изменения не достоверны ($p < 0,1$) (табл. 3). Почти аналогичные данные были получены нами после введения адреналина.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при центральном введении катехоламинов, последние оказывают тормозящее влияние на образование АКТГ, в то время как при внутрибрюшинном введении (когда катехоламины быстро разрушаются) они (по-видимому, продукты расщепления) стимулируют образование АКТГ. Сравнивая эффект влияния гистамина и катехоламинов, можно заметить, что нейрогуморы оказывают специфическое влияние как на нейросекрецию, так и на АКТГ функцию аденогипофиза.

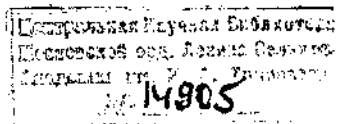
3. Об участии гипоталамо-нейрогипофизарной системы в угнетающем действии ионов кадмия на условнорефлекторную деятельность крыс

Наши прежние исследования (Галояц, 1956, 1957, 1958) показали, что после блокирования—SH групп белков с помощью $CdCl_2$, замыкательная функция коры головного мозга резко подавляется. Выработанные положительные и отрицательные условные рефлексы полностью выпадают.

Мы попытались при помощи гистохимических методов установить те звенья, нарушение которых под влиянием ионов кадмия приводит к нарушению замыкательной функции и предположили участие гипоталамо-гипофизарной системы в угнетающем влиянии ионов кадмия на условнорефлекторную деятельность животных.

Методика исследования

В первой серии опытов самцам крыс в течение 5—6 дней ежедневно вводили под кожу по 0,15 мг на 100 г веса живот-



ного хлористого кадмия. На 5—6-й день введения наблюдались полное выпадение выработанных условных рефлексов, которые спонтанно восстанавливаются через 7—8 дней.

Во второй серии опытов самцам крыс в течение двух дней вводили 2 раза по 1 мг на 100 г веса животного хлористого кадмия. Такое количество вызывает быстрое и глубокое падение всех условных рефлексов на 1—2-й день. Через 5 дней после введения $CdCl_2$ (первая серия) и через 1—2 дня после двукратного введения (вторая серия) забивали животных, извлекали мозг, отделяли гипоталамическую область и гипофиз, фиксировали в растворе Буена и на серийных срезах выявляли нейросекрет.

Результаты исследования

Опыты с очевидностью показали, что двукратное введение 1 мг хлористого кадмия на 100 г веса животного вызывает в клетках супраоптического ядра гипоталамуса глубокие дегенеративные изменения. Во многих клетках стираются границы клеточных образований между цитоплазмой, ядром, а иногда и ядрышком. Клетки становятся гомогенными. В ряде клеток видно только ядро с ядрышком или только ядрышко. В этих пораженных клетках нейросекрет нами не был обнаружен. В больших нейросекреторных клетках супраоптического ядра обнаруживается много вакуолей. Можно предположить, что образование нейросекрета прекращается с самого начала изменения клеток.

Содержание нейросекрета в нейрогипофизе резко уменьшается, а иногда наблюдается эффект опустошения. Можно полагать, что поражение гипоталамо-нейрогипофизарной системы служит главной причиной поломки условнорефлекторных процессов. Однако, как показали гистологические исследования Парижека (Parizek, 1957), хлористый кадмий в дозах 0,02—0,04 ммоль через 24—28 часов вызывает атрофию и некротическую дегенерацию семенников. Тестостерон пропionate восстанавливал вес семенников. Каким же образом можно объяснить механизм влияния ионов кадмия на семенники и на высшие отделы центральной нервной системы, в частности на процессы, связанные с выработкой условноре-

флекторных связей? Что является первичным—изменения гипоталамо-нейрогипофизарной системы или семенников? Может ли изменение нейросекреции играть главную роль в изменении замыкательной функции?

Для выяснения этих вопросов нами были проведены исследования по следующим направлениям:

1. Характер изменений выработанных условных рефлексов у крыс после кастрации.

2. Изменения выработанных условных рефлексов у самок крыс под влиянием ионов кадмия.

3. Влияние ионов кадмия на кастрированных крыс.

4. Влияние тестостерона на условные рефлексы, угнетаемые ионами кадмия.

Опыты показали, что кастрация не вызывает такого глубокого падения выработанных условных рефлексов как ионы Cd^{++} . Кадмий гораздо сильнее угнетает условные рефлексы самок крыс, яичники которых не подвергаются поражению. После кастрации ионы Cd^{++} воспроизводят свое угнетающее влияние на условные рефлексы. Тестостерон пропионат и метилтестостерон не снимают эффект кадмия на условные рефлексы.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что в эффекте угнетающего влияния ионов кадмия на условные рефлексы важное место принадлежит поражению гипоталамо-нейрогипофизарной системы. Однако мы не склонны исключить возможное прямое влияние кадмия на кору и другие отделы мозга. В угнетающем действии ионов кадмия мы не исключаем значение поражения семенников и образования андрогенов, однако полученный материал не позволяет считать это поражение единственным и главным в механизме угнетающего влияния ионов кадмия на мозг.

4. Изменение количества глюкопротеидов в гонадо и тиреотрофных клетках аденогипофиза в соответствии с изменениями нейросекреции под влиянием ионов кадмия

На 5-й день введения хлористого кадмия наблюдается закономерное уменьшение количества глюкопротеидов (опреде-

ляли методом Мак Мануса и Хочкисса (Mc Manus, 1946, Hochkiss, 1948), особенно в больших гонадотрофах, расположенных на периферии железы вокруг капилляров. Уменьшение количества глюкопротендов начинается с центра протоплазмы клеток; периферическая зона протоплазмы остается как бы «петрутой». В полигональных клетках передней доли гипофиза—в тиреотрофах наоборот, количество глюкопротендов увеличивается.

Создается впечатление, что под влиянием ионов кадмия глюкопротенды транспортируются из одного вида клеток в другой. По-видимому, накопление глюкопротендов в некоторых тиреотрофных клетках, а также уменьшение этих веществ в гонадотрофных клетках осуществляется различными механизмами через систему гипоталамус-гипофиз.

5. Морфо-биохимические изменения мозгового слоя надпочечников под влиянием ионов кадмия

На фоне развивающегося влияния ионов кадмия на условные рефлексы, животных декаптитировали, извлекали надпочечники, фиксировали в жидкости Корнуа и гистохимическим путем на срезах определяли—SH, S—S, а также —SH+S—S группы белковых тел—методом Яковлева и Нистратовой (1958) видоизмененного Герштейн (1958). Использовался также метод Барнетта и Зелигмана (Barnett and Seligmann) с применением 2,2-диоксн-6,6-динафтил-дисульфида (ДДД).

Результаты опытов

Изучение контрольных препаратов показало, что количество—SH, а также S—S групп больше всего в корковом слое надпочечников в особенности в сетчатой зоне—ближе к мозговому слою. Меньше всего—SH группы содержится в клубочковой зоне коркового слоя. По сравнению с корковым слоем, в мозговом слое весьма мало как свободных—SH групп, так и S—S связей.

Через два дня после введения хлористого кадмия, при сравнении контрольных препаратов с опытами, отмечается следующее: увеличивается количество свободных сульфид-

рильных групп, а также S—S связей как в корковом, так и (в умеренной степени) в мозговом слое надпочечников.

Ионы кадмия вызывали не только увеличение количества -SH и S-S групп, но и видимые морфологические изменения в надпочечниках. Мозговой слой надпочечников подвергается дегенеративно-некротическим изменениям (этот слой в онтогенезе имеет общее с гипоталамусом происхождение).

В то время как в мозговом слое надпочечников обнаруживаются глубокие дегенеративные поражения, видимые изменения в корковом слое надпочечников отсутствуют.

Полученные нами данные показывают, что ионы Cd^{++} в основном поражают эндокринные органы. Мы склонны считать, что поражение гипоталамо-гипофизарной системы играет важную роль как в угнетающем влиянии ионов кадмия на условные рефлексы, так и в морфо-биохимических сдвигах в семенниках и в надпочечниках. В то же время не исключается возможность прямого влияния ионов Cd^{++} на эндокринные органы.

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ И ПЛАН К ГЛАВ

1. Раздражение центрального конца блуждающего нерва на шее индукционным током или внутрикратидное введение ингибитора ацетилхолинэстеразы (вещество 62.C.47) вызывает ряд морфологических изменений в нейросекреторных клетках: некоторые нейросекреторные клетки теряют нормальное строение, сглаживаются границы между ядром, ядрышком и цитоплазмой. Количество нейросекреторного вещества в этих нейронах, во внеклеточном пространстве, а также в нейрогипофизе резко увеличивается—нейрогипофиз крысы заполняется пылевидными нейросекреторными гранулами. Результаты опытов показывают, что ацетилхолин играет важную роль в образовании и транспорте нейросекреторного вещества гипоталамо-нейрогипофизарной системы.

2. Гистамин, введенный внутрикратидно (0,16 мг на 100 г веса животного), вызывает понижение количества нейросекреторного вещества в супраоптическом ядре гипоталамуса, а в нейрогипофизе в большинстве случаев наблюдается явление

опустошения. При этом активность ацетилхолинэстеразы в супраоптическом и других ядрах гипоталамуса повышается. Результаты этих исследований показывают, что гистамин оказывает свое влияние на нейросекрецию гипоталамо-нейрогипофизарной системы, по-видимому, через систему ацетилхолин-холинэстераза.

3. Под влиянием ГАМК и β -аланина нейросекреция также претерпевает изменения. Эффект влияния этих агентов зависит от путей введения. При внутрибрюшном введении этих веществ количество нейросекреторных гранул уменьшается (в основном в нейрогипофизе) в то время, как при введении в сонную артерию оба они увеличивают количество нейросекреторных гранул в гипоталамо-нейрогипофизарной системе. Причем этот эффект гораздо сильнее выражен при введении β -аланина.

4. Гамма-аминомасляная кислота резко подавляет активность ацетилхолинэстеразы в нейронах супраоптического ядра. Эти данные свидетельствуют о том, что одним из возможных путей влияния этого агента на нейросекреторную гипоталамо-нейрогипофизарную систему может являться система ацетилхолин-холинэстераза.

5. Адреналин и норадреналин в одинаковых концентрациях оказывают различное влияние на нейросекрецию гипоталамо-нейрогипофизарной системы.

Под влиянием норадrenalина (10—10 мкг) в так называемых виноморфных клетках супраоптического ядра (где в норме весьма мало нейросекрета) количество нейросекреторного вещества заметно увеличивается.

6. Серотонин и его антагонист—диэтиламид лизергеновой кислоты (LSD_{25}) оказывают противоположное влияние на нейросекрецию гипоталамо-нейрогипофизарной системы. Серотонин уменьшает, а диэтиламид лизергеновой кислоты, наоборот, увеличивает количество нейросекреторного вещества в гипоталамо-нейрогипофизарной системе. Под влиянием LSD_{25} особенно активируются транспортные процессы. По-видимому, одним из факторов механизма действия серотонина и LSD_{25} является изменение нейросекреторного процесса.

7. Адреналин, норадреналин, а также серотонин не оказывают заметного влияния на активность ацетилхолинэстера-

зы в микроструктурах гипоталамуса. Можно полагать, что в отношении нейросекреторной функции гипоталамических ядер нейрогуморальные агенты могут действовать как через систему ацетилхолин-холинэстераза (ГАМК, Гистамин), так и минуя эту систему (адреналин, норадреналин и серотонин).

8. Нейрогуморальные агенты в отношении гипоталамических нейронов играют в основном трофическую роль—они стимулируют образование и транспорт нейросекреторных гормонов.

9. Кортикотропин стимулирующий фактор (CRF) локализован в переднем гипоталамусе.

10. Гистамин, адреналин, норадреналин оказывают специфическое влияние на активность кортикотропин стимулирующего фактора, вырабатываемого в гипоталамусе. Из этих нейрогуморов гистамин резко уменьшает, а адреналин и норадреналин, наоборот, увеличивают количество аскорбиновой кислоты в надпочечниках.

11. Ионы кадмия в дозах, оказывающих угнетающее влияние на замыкательную функцию коры головного мозга, поражают гипоталамические нейросекреторные клетки и мозговой слой надпочечников. В нейросекреторных клетках происходят глубокие дегенеративные изменения. Во многих нейросекреторных клетках обнаруживаются вакуоли. Нейросекрет исчезает из гипоталамо-нейрогипофизарной системы.

12. Количество глюкостероидов в гонадотрофных клетках аденогипофиза под действием кадмия уменьшается, в то время как в тиротрофных клетках, наоборот, увеличивается. Первичные изменения гипоталамо-гипофизарной системы могут иметь важное значение в возникновении дегенеративных явлений в мозговом слое надпочечников, а также в угнетении условных рефлексов под влиянием ионов кадмия.

13. Результаты наших опытов показывают, что нейросекреторное гормонообразование принимает важное участие в регуляции нейроэндокринной функции организма; между нейросекреторным гормонообразованием и нейрогуморальными агентами существуют глубокие функционально-биохимические специфические взаимоотношения. В отношении нейросекреции нейрогуморальные агенты играют регулируемую роль—этим

осуществляется титимная связь нервных и гуморальных форм регуляции.

ГЛАВА IV

ВЫДЕЛЕНИЕ НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИИ ИЗ ГИПОТАЛАМО-НЕЙРОГИПОФИЗАРНОЙ СИСТЕМЫ

Из гипоталамо-нейрогипофизарной системы млекопитающих методом бумажной хроматографии нами выделено 8—10 фракций; 3 из них оказывают специфическое влияние на коронарное кровообращение.

Опыты показали, что после введения фракции 2 наблюдается уменьшение количества крови, оттекающей из венозных сосудов сердца. Опыты проводили по методу, описанному Каверинной, 1958 (тестирование выделенных активных начал проводилось с помощью фармаколога Р. А. Алексаняна).

При внутривенном введении эффект длится 30 минут, после чего коронарное кровообращение восстанавливается до исходного уровня. Через 2—3 минуты после введения фракции 3 количество крови, оттекающей из венозных сосудов, увеличивается на 100—200%, этот эффект продолжается два часа и на третьем часу возвращается к первоначальному состоянию. Под влиянием фракции 3 амплитуда сердечных сокращений не изменяется (рис. 1). Коронарорасширяющим свойством



Рис. 1 Изменение объемной емкости крови, оттекающей из венозных сосудов сердца под влиянием фракции 3. Обозначения сверху вниз: кровяное давление, изменение объема венозной крови, оттекающей из коронарного синуса сердца, отметка времени испытания объемной емкости венозных сосудов, отметчик времени.

обладает также фракция 4, эффект которой начинается на 15-й минуте и достигает своего максимума на 140-й минуте и продолжается очень долго. Количество крови, оттекающей из венозных сосудов сердца, повышается на 300—400%. На этом фоне кровяное давление держится в пределах нормы, дыхание не меняется. Но это активное начало, сразу после введения, вызывает, наряду с расширением коронарных сосудов, увеличение амплитуды сердечных сокращений (рис. 2).

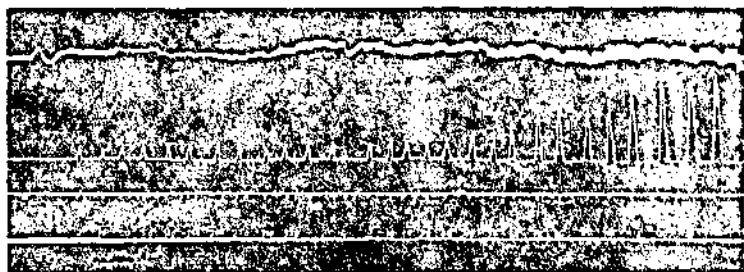


Рис. 2 Изменение объемной емкости крови, оттекающей из венозных сосудов сердца под влиянием фракции 4. Обозначения см. рис. 1.

На специальных опытах мы исследовали состояние тонуса коронарных сосудов под влиянием фракции 3 и 4. Опыты ясно показали, что под их влиянием происходит падение тонуса коронарных сосудов, что свидетельствует о расширении последних.

ГЛАВА V

ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА И СВОЙСТВА ВЫДЕЛЕННЫХ АКТИВНЫХ НАЧАЛ

1. Некоторые физико-химические свойства активных начал

Выделенные активные фракции являются термостабильными и проникают через полупроницаемую мембрану. В различных системах растворителей эти фракции не удается разделить на составные части. Коронарорасширяющие фракции

3 и 4 не всегда удастся отделить друг от друга путем бумажной хроматографии. Их удается отделить путем адсорбции на активированном угле. Фракция 3, в отличие от фракции 4, адсорбируется на угле и поглощает ультрафиолетовые лучи.

2. Химический состав и свойства выделенных активных начал (гидролиз)

Коронарорасширяющие фракции имеют полипептидную природу. (Опыты производились вместе с нашей сотрудницей Р. М. Сраниной). После кислотного гидролиза элюатов фракции 3, выявлены следующие 10 аминокислот: валин, лизин, аргинин, гистидин, глютаминовая кислота, аспарагиновая кислота, аланин, валин, триптофан, фенилаланин. При гидролизе фракции 4, на хроматограммах обнаруживается 7 пятен, еще не изученных нами.

Полученные данные, а также ряд химических исследований показали, что выделенные нами полипептиды не являются известными нейрогормонами—вазопрессорном, окситоцином, веществом P.

Представляло большой интерес выяснение вопроса, касающегося связи выделенных нами активных начал с белком Ван Дейка, т. е. имеет ли белок Ван Дейка, помимо окситолических или вазопрессорных, также и коронарорасширяющие свойства? Или же имеются другие специфические белки, с которыми связаны коронароактивные полипептиды?

3. Выделение белка Ван Дейка из нейрогипофиза быка и его биологическое испытание

Открытие белка Ван Дейка явилось новым этапом в изучении нейрогипофизарных гормонов. Ван Дейк экстрагировал нейрогипофиз 0,01N H₂SO₄ и выделил однородный белок, обладающий одновременно вазопрессорным и окситолическим влиянием.

Для выделения белка Ван Дейка, Acher (1956) пользовался методом Ван Дейка с некоторыми видоизменениями с

целью получения наибольшего выхода. В наших опытах мы пользовались методом Аше с некоторыми видоизменениями.

Из ацетонového порошка нейрогипофиза быка и утем экстрагирования в 0,01N H₂SO₄ pH—4,25—4,5 и фракционного высаливания (NaCl) нами был выделен белок Ван Дейка, который обладал явно выраженным вазопрессорным и окситоическим действием.

Однако белок Ван Дейка, повышая кровяное давление, вызывал сужение коронарных сосудов; такой эффект может продолжаться не больше 15—20 минут. Это свидетельствует о том, что вазопрессин, адсорбированный на поверхности белка Ван Дейка, оказывает свое характерное влияние на кровяное давление и на коронарное кровообращение. По-видимому, коронаросуживающая фракция, выделенная нами, не связана с белком Ван Дейка, так как она, в отличие от вазопрессина, не оказывает влияния на кровяное давление.

Таким образом, коронаросуживающая фракция, выделенная нами, ничего общего не имеет ни с белком Ван Дейка, ни с вазопрессином.

Выделенные коронарорасширяющие фракции также не связаны с белком Ван Дейка. После введения белка Ван Дейка его вазопрессорное влияние исчезает через 10—15 минут и в течение 1,5 часа не обнаруживается никаких изменений в кровяном давлении и в коронарном кровообращении.

Нет основания думать, что коронарорасширяющие полипептиды связаны с белком Ван Дейка, так как они легко отщепляются при хроматографии. Кроме того в крови имеются ферментативные системы, расщепляющие белки, в том числе белок Ван Дейка с высвобождением окситоцина и вазопрессина.

4. Выделение из гипоталамуса специфического белка с коронарорасширяющим свойством

Учитывая то обстоятельство, что биологически активные начала нами были выделены из гомогенатов гипоталамо-нейрогипофизарной системы путем экстрагирования разведенными растворами уксусной кислоты (pH 3—4), а также то, что

они не извлекаются водой или физиологическим раствором (0,85% NaCl) мы полагали, что коронароактивные полипептиды не свободны и при экстрагировании разбавленной уксусной кислотой они отщепляются от какого-то белка, с которым прочно связаны. Этот белок является носителем коронарорасширяющих полипептидов, которые в кислой среде отщепляются от него.

Из гипоталамуса свиньи и быка, путем фракционного выщелачивания нами был выделен водорастворимый белок, который после внутривенного введения (кошкам) полностью воспроизводит эффект коронарорасширяющего влияния фракции I. Опыты ясно показали, что при введении этого белка коронарные сосуды постепенно расширяются, и через 30 минут количество крови, оттекающей из венозных сосудов сердца повышается на 300—400%. Этот эффект продолжается 3—4 и более часов. Характерно, что в течение всего опыта, кровяное давление не подвергается изменениям (рис. 3).

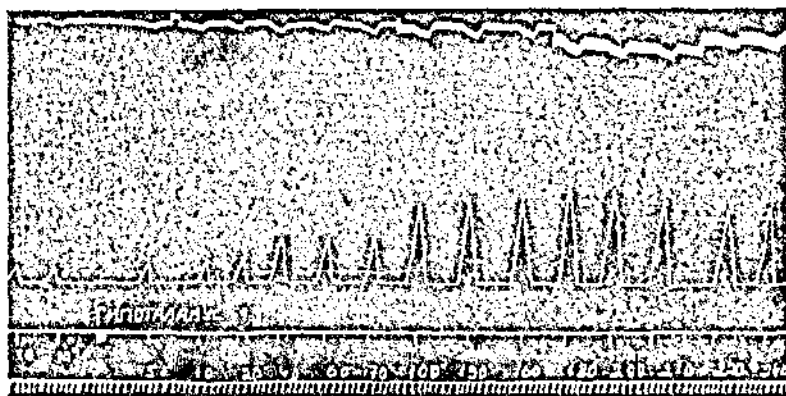


Рис. 3 Изменение объемной емкости крови, оттекающей из венозных сосудов сердца под влиянием специфического белка. Обозначения те же.

Тот факт, что именно определенная белковая фракция проявляет активность, а также то, что только из экстрактов гипоталамуса удастся выделить белок с вышеуказанными специфическими свойствами, дает нам основание считать его спе-

цифическим носителем коронарорасширяющих полипептидов. Пока не удалось выделить белок и носитель, обладающий коронаросуживающим влиянием.

Выявление природы связи белка с полипептидами требует дальнейших исследований.

ГЛАВА VI

ИЗМЕНЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ КОРОНАРОАКТИВНЫХ ПОЛИПЕПТИДОВ ПРИ НЕКОТОРЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

1. Влияние гистамина и хлористого натрия на активность выделенных фракций

Для выяснения места и роли выделенных нами активных начал необходимо выяснить: выделяются ли эти вещества из мозга в кровь, транспортируются ли они в нейрогипофиз (или в аденогипофиз), имеют ли они определенные взаимоотношения с нейрогуморальными агентами и как влияют эти полипептиды на коронарные сосуды при экспериментально вызванных патологических состояниях коронарных сосудов.

Мы уже отметили, что коронароактивные полипептиды обнаруживаются также в нейрогипофизе, хотя количество выделенных биологически активных полипептидов в нейрогипофизе намного меньше, чем в гипоталамусе. Из этого мы заключаем, что по-видимому, коронароактивные пептиды выделяются в кровь (ибо главным каналом, через который гипоталамические гормоны транспортируются из гипоталамуса в нейрогипофиз и в аденогипофиз, являются сосуды).

Другим важным вопросом было выяснение отношения коронароактивных пептидов к нейросекреторному веществу гипоталамо-нейрогипофизарной системы. Как мы уже отметили, гистамин при внутривенном введении способствует быстрому выходу нейросекрета из гипоталамо-нейрогипофизарной системы в кровь.

Под влиянием гистамина количество фракций, выделенных из гипоталамуса, значительно увеличивается, составляя 12—13, против 8—9 фракций в норме.

Коронаросуживающая функция оказывает свое характерное влияние, а коронарорасширяющее влияние соответствующих фракций уменьшается, в некоторых случаях почти исчезая.

Как известно, методом дегидратации можно ускорить эвакуацию нейросекреторных гранул из гипоталамо-нейрогипофизарной системы в кровяное русло. Мы вводили 2,5% хлористого натрия в течение 8—10 дней по 1,5—2 мл крысам весом 150—200 г. После этого животных быстро декапировали, извлекали мозг и обычным способом готовили экстракт из гипоталамуса, после чего хроматографическим методом выделяли различные фракции.

Опыты показали, что на хроматограммах выявляются вещества, сходные по своему R_f с активными полипептидами, однако элюаты соответствующих пятен после внутривенного их введения не оказывают влияния на коронарное кровообращение.

Полученные факты свидетельствуют о том, что по-видимому, коронароактивные полипептиды связаны с нейросекреторными гранулами, вырабатываемыми нейросекреторными ядрами гипоталамуса, так как агенты, вызывающие исчезновение нейросекреторных гранул из гипоталамо-нейрогипофизарной системы, приводят к понижению или полному исчезновению полипептидов, оказывающих специфическое влияние на коронарное кровообращение.

Результаты наших опытов ясно показывают, что между нейрогуморальными агентами, нейросекреторным веществом и полипептидными коронароактивными веществами (входящими, по-видимому, в состав последнего), существует тесная связь.

2. Влияние коронарорасширяющего полипептида, выделенного из гипоталамуса, на коронарораспазм, вызванный питуитрином

Вместе с Р. А. Алексаняном (1963) мы задались целью выяснить: может ли коронарорасширяющая фракция снять или предупредить коронарораспазм, вызванный питуитрином.

Элюаты хроматографических пятен были изучены на коронарном кровообращении у наркотизированных уретаном кошек по методу, описанному Н. В. Кавершиной (1958). Испытуемые вещества вводились внутривенно, причем коронарорасширяющий полипептид, выделенный из гипоталамуса, вводили как до введения питуинтрина, так и на фоне питуинтринового коронароспазма.

В одной серии опытов изучали влияние коронарорасширяющей фракции на фоне действия питуинтрина. После введения питуинтрина в дозе 3 единицы внутривенно, через 2—3 минуты количество крови, оттекающей из венозных сосудов сердца, заметно уменьшается, что свидетельствует о сужении коронарных сосудов. Обычно этот эффект продолжается в течение 25—30 минут и возвращается к норме. Одновременно на первых же минутах после введения питуинтрина кровяное давление повышается (25—30 мм ртутного столба) и через 3—5 минут возвращается к исходному уровню. Через 10 минут на фоне действия питуинтрина вводили фракцию 4. Коронаросуживающее влияние питуинтрина прекращалось, и количество крови, оттекающей из венозных сосудов, через 5 минут достигало нормы, в дальнейшем продолжая возрастать.

Во второй серии опытов на фоне развивающегося коронарорасширяющего влияния фракции 4, вводили сразу 5 единиц питуинтрина (почти вдвое больше первой дозы). Несмотря на это, питуинтрин оказался совершенно неэффективным в отношении коронарных сосудов. Однако сразу после введения питуинтрина наблюдается легкое и быстро проходящее повышение кровяного давления. В течение более чем трех часов коронарорасширяющее влияние фракции 4 продолжает нарастать, и за это время кровяное давление не изменяется.

Результаты наших исследований показывают, что между питуинтрином и коронарорасширяющим пептидом существуют конкурентные взаимоотношения. Полученные данные свидетельствуют о том, что выделенные активные начала имеют определенное физиологическое значение в регуляции коронарного кровообращения.

В диссертации обсуждается значение выделенных активных начал в норме и патологии и рассматриваются вопросы, касающиеся их значения в нейро-гуморальной регуляции.

На основании полученных данных мы полагаем, что выделенные нами биологически активные полипептиды, по-видимому, являются нейрогормонами, играющими важную роль в регуляции коронарного кровообращения в норме и патологии.

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ по IV, V, VI ГЛАВАМ

1. Из гипоталамо-нейрогипофизарной системы животных (крыса, свинья, бык) выделены 8—10 фракций, из которых 3 оказывают специфическое влияние на коронарное кровообращение.

Одна из фракций (фракция 2) суживает коронарные сосуды через 1—2 минуты после ее внутривенного введения кошкам. Этот эффект продолжается в течение 25—30 минут.

2. Фракция 3 расширяет коронарные сосуды сразу (через 1—2 минуты) после внутривенного введения, и максимальное сосудорасширяющее действие отмечается на 120-ой минуте, затем постепенно устанавливается исходный уровень. Коронарорасширяющее влияние этой фракции не сопровождается изменением систолического давления (сердечных сокращений).

3. Фракция 4 оказывает медленное коронарорасширяющее влияние. Выраженный эффект наступает через 25 минут и достигает своего максимума через 3 часа. Количество крови, оттекающей из венозных сосудов сердца, увеличивается на 300—400%. Этот эффект продолжается в течение нескольких часов. На фоне расширения коронарных сосудов наблюдается также усиление сердечных сокращений. Эти данные позволяют считать фракции 3 и 4 различными, но, по-видимому, близкими по структуре полипептидными соединениями.

4. Опыты в отношении тонуса коронарных сосудов подтвердили, что биологически активные полипептиды, выделенные из гипоталамо-нейрогипофизарной системы, действуют на тонус коронарных сосудов без изменения кровяного давления.

5. Выделенные биологически активные вещества являются водорастворимыми, термостабильными соединениями. После диализа экстрактов гипоталамо-нейрогипофизарной системы против дистиллированной воды подкисленной уксусной кислотой, (рН—3—4) они полностью переходят в диализат.

6. Гидролиз (с помощью 6N HCl) отдельных фракций, в течение 7—24 часов при 105° показал, что активные вещества являются полипептидами. После гидролиза коронарорасширяющей фракции, адсорбированной на угле, обнаружено 10—11 аминокислот: лизин, аргинин, гистидин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, аланин, валин, триптофан, фенилаланин и лейцин, а во фракции, неадсорбирующейся на угле—7 аминокислот.

7. Из нейрогипофиза быка выделен и идентифицирован белок Ван Дейка, обладающий мощным окситоцическим и вазопрессорным влиянием. Однако коронароактивные полипептиды не имеют отношения к белку Ван Дейка—носителю вазопрессина и окситоцина. Эти данные также говорят в пользу того, что выделенные полипептиды являются новыми активными началами.

8. Путем высаливания сернистыми аммиаком из гипоталамической области свиньи и быка выделен водорастворимый белок, обладающий резко выраженным коронарорасширяющим свойством. Это дает основание полагать, что выделенный белок является специфическим носителем коронарорасширяющих полипептидов.

9. Под влиянием различных химических агентов (гистамин, хлористый натрий), способствующих выходу нейросекреторных гранул из гипоталамо-нейрогипофизарной системы в кровь, происходит глубокое изменение активности коронароактивных полипептидов. Результаты этих исследований показывают, что выделенные нами активные начала, вероятно, входят в состав нейросекреторных гранул гипоталамо-нейрогипофизарной системы или связаны с ними.

10. Коронарорасширяющие полипептиды снимают коронарорасширяющий спазм, вызванный питуитрином. На фоне развивающегося коронарорасширяющего влияния фракции 4, питуитрин в дозе 5 единиц совершенно не проявляет своего коронаросу-

живающего действия. Результаты этих исследований свидетельствуют о том, что, по-видимому, между коронарорасширяющими полипептидами и питуитрином существуют конкурентные взаимоотношения.

11. Результаты наших исследований показывают, что в гипоталамусе, наряду с известными нейрогуморальными агентами и полипептидами, существуют и другие активные начала, по-видимому, нейрогормональной природы, входящие в состав нейросекреторного вещества. Значение этих нейрогормонов особенно важно в нейрогуморальной регуляции коронарного кровообращения.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ

1. Галоян А. А. Возможность обратимого изменения условнорефлекторной деятельности у крыс при блокировании и восстановлении сульфгидрильных групп. Тезисы докладов II Закавказского съезда физиологов, биохимиков и фармакологов. Изд. Груз. ССР, 1956.
2. Галоян А. А. Возможность обратимого изменения условнорефлекторной деятельности у крыс при блокировании и восстановлении тканевых сульфгидрильных групп. ДАН Арм. ССР, Изд. АН Арм. ССР, 1956, XXII, 3.
3. Галоян А. А. Динамика изменений условнорефлекторной деятельности при блокировании и восстановлении тканевых сульфгидрильных групп. Диссертация кандидатская. М., 1956.
4. Галоян А. А. и Турпаев Т. М. О механизме действия тиоловых ядов на условнорефлекторную деятельность (по опытам с радиоактивной сулемой ($\text{Hg}^{203}\text{Cl}_2$). ДАН Арм. ССР. Изд. АН Арм. ССР, 1958, XXVII, 1.
5. Галоян А. А. Сравнительная оценка влияния тиоловых ядов (CdCl_2 , HgCl_2) на условнорефлекторную деятельность животных. Тезисы докладов по проблеме «Тиоловые соединения в медицине», посвящ. 40 летию УССР. Киев, 1957.
6. Галоян А. А. Сравнительная оценка влияния тиоловых ядов (двухлористая ртуть, двухлористый кадмий) на условнорефлекторную деятельность животных. Труды научной конференции Укр. п/и санитар. по-гигиенич. Ин-та. Киев, 1959.
7. Галоян А. А. и Манасян Р. Ф. К методу выявления сукциндегидразы в микроструктурах центральной нервной системы и некоторые данные ее изменения при различных воздействиях. Известия АН Арм. ССР. Изд. АН Арм. ССР, 1961, XIV, 2.

8. Галоян А. А., Манасян Р. Ф. и Срапюнян Р. М. Гистохимический анализ механизма влияния гамма-аминомасляной кислоты и инсулина на транспорт глюкозы в тканях. Вопросы Биохимии. Изд. АН Арм. ССР. 1961, т. 2.

ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ ОПУБЛИКОВАНЫ
СЛЕДУЮЩИЕ РАБОТЫ:

9. Галоян А. А. Об участии системы гипоталамус-гипофиз в угнетающем действии ионов кадмия на условнорефлекторную деятельность крыс. Проблемы эндокринологии и гормонотерапии. 1959, V, № 6 (Сообщ. I).
10. Галоян А. А. К механизму действия ионов кадмия на условнорефлекторную деятельность животных. Известия АН Арм. ССР. 1959, XII, № 11.
11. Галоян А. А. Об участии системы гипоталамус-гипофиз в угнетающем действии ионов кадмия на условнорефлекторную деятельность крыс. Проблемы эндокринологии и гормонотерапии. 1960, VI, № 1 (Сообщ. II).
12. Галоян А. А. К механизму действия ионов кадмия на условнорефлекторную деятельность животных. Известия АН Арм. ССР. 1960, XIII, № 8.
13. Галоян А. А. Новые данные о механизме влияния ионов кадмия на животный организм. Вопросы биохимии. Изд. АН Арм. ССР. 1960, т. 1.
14. Galoyan A. A. Neurosecretion changes at various influence on the Central nervous System. X^e Congress International de Biologie Cellulaire, Paris, 1960.
15. Galoyan A. A. Changes in neurosecretion during Various effects on the central nervous system. Pathologie et Biologie, Paris, 1961, 9.
16. Галоян А. А. Некоторые новые данные о механизме влияния ионов кадмия на мозг животных. Сборник научных трудов Ин-та физиологии АН Арм. ССР. 1961, вып. III.
17. Галоян А. А. Влияние гистамина на нейросекреторную функцию гипоталамо-нейрогипофизарной системы. Вопросы биохимии. Изд. АН Арм. ССР. 1961, т. 2.
18. Галоян А. А. Влияние адреналина и норадреналина на нейросекреторную функцию гипоталамо-нейрогипофизарной системы. Вопросы биохимии. 1961, т. 2.
19. Галоян А. А. Данные о взаимоотношении нейрогуморальных агентов с полипептидными гормонами гипоталамуса. Тезисы III Закавказского съезда физиологов, биохимиков и фармакологов, Баку, 1962, 317.
20. Галоян А. А. К механизму влияния гистамина на выделение адренокортикотропного гормона адеогипофизом. ДАН Арм. ССР. 1962, XXXIV, № 4.

21. Галоян А. А. Взаимоотношение нейросекреторного гормонообразования с нейрогуморальными агентами. Третья Всесоюзная конференция по биохимии нервной системы. Сб. докладов под ред. Палладина и Бунятыана. Ереван, 1962, ст. 517.
22. Галоян А. А. О двух гормонах гипоталамуса оказывающих действие на коронарное кровообращение. ДАН Арм. ССР. 1962, XXXIV, № 3.
23. Галоян А. А. О наличии кортикотропин стимулирующего фактора в переднем гипоталамусе. ДАН Арм. ССР. 1962, XXXVI, № 1.
24. Галоян А. А. и Манасян Р. Ф. Об изменении ацетилхолинэстеразной активности в микроструктурах гипоталамуса под влиянием гамма-аминомасляной кислоты. Вопросы биохимии. Изд. АН Арм. ССР, 1963, т. III.
25. Галоян А. А. и Манасян Р. Ф. Влияние гистамина на холинэстеразную активность в микроструктурах гипоталамуса. Вопросы биохимии. Изд. АН Арм. ССР. 1963, т. III.
26. Галоян А. А. и Алексанян Р. А. Влияние нейротормона, выделенного из гипоталамуса на венечное кровообращение в условиях коронар-спазма ДАН Арм. ССР. 1963, XXXVII, № 3.
27. Галоян А. А. и Королев Н. В. Применение эмиссионного микроспектрального анализа для количественного определения некоторых элементов в хроматографических пятнах. ДАН Арм. ССР. 1963, XXXVII, № 4.
28. Галоян А. А. Выделение новых биологически активных соединений из гипоталамо-нейрогипофизарной системы. Изв. АН Арм. ССР. 1963, XVI, № 4.
29. Галоян А. А. О химическом составе и свойствах новых биологически активных соединений, выделенных из гипоталамо-нейрогипофизарной системы. Тезисы I Всесоюзного съезда биохимиков. Л., 1964.
30. Галоян А. А. Об участии ацетилхолина в образовании и выделении нейросекрета клетками гипоталамуса. Проблемы эндокринологии и гормонотерапии. 1963, № 2.
31. Галоян А. А. Биологически активные соединения гипоталамо-нейрогипофизарной системы. Проблемы эндокринологии и гормонотерапии. 1964, № 3.
32. Галоян А. А. Выделение из гипоталамуса специфического белка с коронарорасширяющим свойством. ДАН Арм. ССР. 1964 (в печати).