

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ПРОЦЕССЕ СОЗРЕВАНИЯ МАЛЬКОВ КУРИНСКОГО ОСЕТРА *ACIPENSER GUELLENSTAEDTI PERSICUS*.

А.А. Мехтиев¹, Ч.А. Мамедов², Р.Ю. Касимов¹

¹Институт физиологии им. А.И.Караева НАН Азербайджана, Баку,
arifmekht@yahoo.com;

²Институт рыбного хозяйства Министерства экологии Азербайджана, Баку.

Серотонинергическая система играет важную роль в процессах пролиферации и дифференцировки клеточных элементов головного мозга. Серотонин-продуцирующие клетки появляются на очень ранних стадиях эмбриогенеза человека (Azmitia, 2001) так же, как и серотониновые рецепторы (Lauder et al., 2000). У крыс серотонин-продуцирующие нейроны ствола появляются одними из первых в головном мозге и играют ключевую роль в регуляции нейрогенеза (Klingman and Marshak, 1985). Столь раннее возникновение серотонин-продуцирующих клеток в период, когда медиаторные свойства серотонина не могут быть реализованы вследствие недостаточной зрелости клеточных элементов центральной нервной системы, свидетельствует об участии этих клеток в регуляции пролиферации и дифференцировки клеток эмбриональных тканей. Исходя из представленных данных, целью настоящей работы являлось изучение возможности использовать определение уровня активности серотонинергической системы головного мозга молоди осетров для оценки зрелости их центральной нервной системы. Определения активности серотонинергической системы осуществляли путём иммунохимического измерения содержания серотонин-модулируемого антиконсолидационного белка (СМАБ) в белковых экстрактах головного мозга мальков осетров с использованием поликлональных иммуноглобулинов, полученных к этому белку. СМАБ был выделен ранее в Институте физиологии им. А.И.Караева (Баку) из головного мозга белых крыс, обладает молекулярной массой 126 кДа (Мехтиев, 2000) и лишён видовой специфичности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследования выполнены в 2005 г. на разновозрастных группах молоди куринского осетра *Acipenser gueldenstaedti persicus*, выращенных бассейновым методом в условиях Хыллинского осетрового рыбного завода Азербайджанской Республики. Мальки весом 0,5 г (n=9) и 1 г (n=7) были 50-дневного возраста, тогда как двухграммовая и трёхграммовая молодь были 50- (n=7) и 70-дневного (n=7) возраста.

У мальков извлекали головной мозг и экстрагировали суммарные водорастворимые белки. Концентрацию экстрагированных белков измеряли по методу Бредфорда на

длине волны 595 нм. Концентрацию экстрагированных белков доводили с помощью 0,1 М буфера трис-HCl (pH 8,6) до 20 мкг/мл и использовали в качестве антигенов при постановке непрямого твёрдофазного иммуноферментного анализа на полистироловых планшетах (Corning Incorporated, USA). На 2-ой день наносили поликлональные иммуноглобулины к СМАБ, разведенные в соотношении 1: 40. Через 24 ч лунки вновь отмывали и наносили противокроличьи козьи конъюгаты иммуноглобулинов с пероксидазой хрена (Кардиоцентр, Москва) в разведении 1: 6000. Через 3 ч лунки вновь отмывали и заливали субстратом – ортофенилендиамином. Реакцию останавливали через 20 мин с помощью 3 М раствора NaOH. Результаты реакции считывали на длине волны 492 нм. Полученные результаты усредняли по группам и сравнивали по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований была выявлена следующая закономерность изменений. При сравнении 50-ти дневных мальков осетров весом 0,5 г, 1 г и 2 г было обнаружено резкое снижение содержания СМАБ у однограммовых мальков относительно полуграммовых ($0,058 \pm 0,002$ и $0,07 \pm 0,002$ соответственно, $p < 0,01$), тогда как между однограммовыми и двухграммовыми мальками никакой разницы по уровню СМАБ обнаружено не было ($0,058 \pm 0,002$ и $0,059 \pm 0,028$ соответственно).

Наряду с этим, проводили сравнение уровня СМАБ в головном мозге мальков осетров одного возраста, но разной массы. При анализе содержания СМАБ у двухграммовых мальков 50- и 70-суточного возраста, а также у трёхграммовых мальков 58- и 70-суточного возраста была выявлена преобладающая роль массы тела над возрастом животных в детерминировании его значений. В частности, двухграммовые мальки осетров 50- и 70-суточного возраста имели близкие значения СМАБ ($0,059 \pm 0,028$ и $0,061 \pm 0,005$, соответственно) так же, как и трёхграммовая молодь 58- и 70-суточного возраста ($0,04 \pm 0,005$ и $0,045 \pm 0,003$ соответственно). Вместе с тем, были обнаружены значительные различия между двухграммовыми 50-суточными и трёхграммовыми 58-суточными мальками ($p < 0,01$), а также между двухграммовыми 70-суточными и трёхграммовыми 70-суточными мальками осетров ($p < 0,01$).

Проведение интегрального анализа содержания СМАБ у 50-дневных полуграммовых, однограммовых, двухграммовых и 58-дневных трёхграммовых мальков позволяет выявить следующую динамику. При сравнении содержания СМАБ у однограммовых и полуграммовых мальков наблюдается его заметное ($p < 0,01$) снижение. Далее, при анализе уровня СМАБ у однограммовых и двухграммовых мальков происходит стабилизация значений этого показателя – они выходят на плато, тогда как при последующем рассмотрении уровня СМАБ от двухграммовых к трёхграммовым малькам вновь отмечается заметное его падение ($p < 0,05$).

Таким образом, на ранних этапах созревания головного мозга осетров в постэмбриональном онтогенезе от полуграммовых мальков к трёхграммовым наблюдается постепенное снижение активности серотонинергической системы. Выявленное снижение активности серотонинергической системы отмечается в период значительного сокращения пролиферативной активности клеточных элементов головного мозга молодежи осетров и интенсификации процессов их дифференциации и формирования структур головного мозга. В частности, возраст использованных в представленном исследовании рыб приходится на 6-ой период III этапа развития конечного мозга осетровых, охватывающий интервал от 35-тых до 70-ых суток постэмбрионального развития (Рустамов, 1987). К этому этапу происходит образование всех основных зон и ядер конечного мозга осетровых, и дальнейшее развитие следует по пути дифференцировки образовавшихся структур.

Снижение активности серотонинергической системы головного мозга мальков осетров в период интенсификации процессов дифференцировки его клеточных элементов и завершения их пролиферации, вероятно, обусловлено тем, что рецепторы серотонина 5-НТ1А, задействованные в регуляции процессов дифференцировки клеток, обладают высоким уровнем аффинности (10^{-9} М) к серотонину, на три порядка превышающим аффинность рецепторов серотонина 5-НТ2А (10^{-6} М), ответственных за регуляцию пролиферации нервных клеток (Azmitia, 2000).

Исходя из литературных данных о регуляторной роли серотонина в отношении процессов дифференциации клеток (Marois and Croll, 1992; Hernandez, 1994), выявленная динамика изменения уровня СМАБ позволяет проследить во временном масштабе характер этой регуляции. Рассмотрение этой динамики в процессе созревания головного мозга молоди осетров позволяет прийти к заключению о том, что снижение активности серотонинергической системы происходит не градуально, а имеет ступенчатый (на отрезке развития от однограммовых к двухграммовым малькам) характер. Вследствие регуляции серотонином процесса дифференцировки, можно полагать, что аналогичному временному характеру изменений также подчиняется динамика дифференциации клеточных элементов и созревания структур головного мозга мальков. Кроме того, по уровню активности серотонинергической системы головного мозга мальков осетров, по-видимому, можно прийти к заключению о степени зрелости структур головного мозга, что может найти применение в практике рыбоводства для определения степени зрелости мальков осетров перед их выпуском в естественную среду обитания.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Мехтиев А.А. (2000) Обнаружение в головном мозге крыс белка, обладающего антиконсолидационными свойствами. Бюлл. Экспер. Биол. мед., т. 130, № 8, с. 147-150.
2. Рустамов Э.К. (1987) Развитие конечного мозга осетровых рыб в раннем онтогенезе. Журнал эвол. биохим. физиол., т. 23, № 2, с. 253-257.
3. Azmitia E.C. (2001) Modern views on an ancient chemical: Serotonin effects on cell proliferation, maturation, and apoptosis. Brain Res. Bulletin, V. 56, № 5, p. 413-424.
4. Hernandez R.J. (1994) Serotonin as a neurotrophic factor in the fetal brain: Binding, capture and release in the centers of axonal growth. Gas. Med. Mex. V. 130, № 1, p. 246-252.
5. Klingman D., Marshak D.R. (1985) Purification and characterization of a neurite extension factor from bovine brain. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, V. 82, № 22, p. 7136-7139.
6. Lauder J.M., Wilkie M.B., Wu Ch., Singh S. (2000) Int. J. Developmental Neurosci., V. 18, № 7, p. 653-662.
7. Marois R., Croll R.P. (1992) Development of serotoninlike immunoreactivity in the embryonic nervous system of the snail *Lymnaea stagnalis*. J. Comp. Neurol., V. 322, № 1, p. 255-265.