

**A BIOGÉN MONOAMINOK SZEREPE A TAVIKAGYLÓ
(*ANODONTA CYGNEA* L.)
AKTIVITÁSÁNAK SZABÁLYOZÁSÁBAN**

HIRIPI LÁSZLÓ

A tavi kagyló aktivitására periodicitás jellemző. A periodicitás több órás aktív és nyugalmi szakaszok váltakozásaiból áll, és a záróizom eltérő működésében, valamint más funkciókban is megnyilvánul [12, 15]. A nyugalmi periódusra a záróizmok tartós tónusos kontrakciója, míg az aktív periódusra az izmok ernyedtt állapota és fázisos, gyors, ritmikus kontrakciók jellemzőek (1. ábra). A tavi kagyló aktív és nyugalmi periódusainak váltakozása a magasabbrendűek alvás-ébrenlét állapotának primitív analógiája. Az analógia abban is kifejezésre jut, hogy mind a kagyló periodikus aktivitásának, mind a magasabbrendűek alvás-ébrenlét szabályozásában a biogén monoaminok (MA), elsősorban a szerotonin (5HT), dopamin (DA) és a noradrenalin (NA) játszanak szerepet.

Anodonta cygnea idegrendszerében spektrofotofluorimetrikus módszerrel mérve a szerotonin, dopamin és noradrenalin koncentrációját, rendre 30–50 $\mu\text{g/g}$, 20–30 $\mu\text{g/g}$ és 1–2 $\mu\text{g/g}$ -nak találtuk [5, 8]. Perifériás szövetekben azonban — így a záróizomban is — csak szerotonint tudtunk azonosítani. Korábbi vizsgálatok szerint az 5HT jelentős szerepet játszik a molluska izmok, így a záróizom [13] és a láb-retraktor izom [20] relaxációjában. *Anodontán* az 5HT perifériás hatása abban nyilvánul meg, hogy tartós aktív periódust hoz létre, és az aktív periódus alatt nő a gyors ritmikus kontrakciók száma. Ezzel ellentétes hatást váltanak ki a katecholaminok, a DA és a NA. A vízbe adott DA és NA hatására jelentősen csökken az aktív periódusok időtartama és nő a nyugalmiaké [8, 16]. Vizsgálataink szerint a szerotonin koncentrációja magasabb az ernyedtt állapotú záróizomban, mint a tónusos kontrakció idején [17]. A cerebro-viscerális connectivum elektromos ingerlésével a záróizom relaxációja idézhető elő és ilyenkor is megnövekszik a záróizmok szerotoninkoncentrációja. Irodalmi adatok szerint az 5HT az izom relaxációját elsősorban a szabad intracelluláris Ca^{++} koncentrációjának szabályozásán keresztül hozza létre.

Vizsgálataink kimutatták, hogy monoamin szintézis csak az idegrendszerben folyik, a záróizomban nem [6], tehát a záróizom változó szerotonintartalma az idegrendszerből származik. A perifériás hatáson túl mind a szerotoninerg, mind a katecholaminerg rendszer a központi idegrendszer szintjén is részt vesz az aktivitás szabályozásában. Erre utal, hogy a szerotonin centrálisan is a záróizom relaxációját és az aktivitás fokozódását váltja ki [13]. Továbbá az

I. TÁBLÁZAT

A viscerális ganglionban mért 5HT és a cerebrális és viscerális ganglionokban mért DA és NA koncentráció az aktív és a nyugalmi periódus kezdetén (mean $\pm$ S. E.)

	az aktivitás	a nyugalom	P
	kezdetén		
	μg/g	μg/g	
5HT	31,000 ± 0,920	38,230 ± 3,400	P < 0,001
DA	25,400 ± 2,050	19,150 ± 2,170	P < 0,010
NA	0,896 ± 0,081	0,714 ± 0,047	P < 0,001

aktivitás eltérő fázisaiban a szerotonin és a catecholaminok koncentrációinak jelentős különbségét mutattuk ki a ganglionokban. A viscerális ganglionban mért szerotoninszint 22%-kal magasabb a nyugalmi periódus kezdetén, mint az aktív periódus kezdetén. Ezzel ellentétes fázisú a DA és a NA koncentrációjának változása a cerebrális és a viscerális ganglionban (I. táblázat) [18]. A szerotonin ill. a DA és a NA koncentrációjának különbsége a záróizomban és a ganglionokban az aktivitás eltérő fázisaiban, valamint ezen anyagok hatásai arra a következtetésre vezettek, hogy az aktív periódus alatt a szerotoninerg, míg a nyugalmi periódus alatt a catecholaminerg rendszer túlsúlya érvényesül [18].

A monoaminok szerepének további vizsgálata során tavi kagylón a monoamin szintézis, a tárolás, a lebontás befolyásolásával kíséreltünk meg további adatokat kapni az aktivitás szabályozására, figyelembevéve a monoamin metabolizmus ismert útját.

A pCPA és az α -MMT hatása

A szerotonin szintézisének gátlására paraklórfenilalanint (pCPA), míg a catecholaminok szintézisének gátlására α -metilmetatirozint (α -MMT) használtunk [8, 18]. Megállapítottuk, hogy a pCPA tartósan és igen jelentősen csökkenti a ganglionok 5HT tartalmát és az 5HT szint csökkenésével párhuzamosan csökken az állatok aktivitása is (2. ábra). Az aktivitás csökkenése arra vezethető vissza, hogy az idegrendszer az 5HT szintézis gátlása miatt az 5HT záróizom irányába történő transzportja jelentősen csökken.

α -MMT kezelést követően a DA és a NA szint csökkenése nem az aktivitás fokozódását, hanem a csökkenését okozta (3. ábra). Az α -MMT ezen hatása valószínűleg azzal magyarázható, hogy az α -MMT-ből képződő metaraminol noradrenalin szabadít fel és ez a nyugalmi periódus létrejöttét segíti elő.

Monoamino-oxidáz (MAO) gátlószerek hatása

In vitro vizsgálataink azt mutatták, hogy a kagyló központi idegrendszerének MAO aktivitása alacsony [7]. Öt különböző monoamino-oxidáz gátlószert — actomol, pargylin, nialamid, iproniazid, tranilcipromin — hatását vizs-

gálva a ganglionok szerotonin-, dopamin- és noradrenalin szintjére azt találtuk, hogy a vizsgált gátlószerek egyike sem okozott jelentős változást a ganglionok monoaminszintjében [9]. Az aktivitást azonban egyes gátlószerek jelentősen befolyásolták, csökkentették az aktív periódus átlaghosszát. Valószínűleg e gátlószerek aktivitás-befolyásoló hatásukat nem a központi idegrendszer, hanem perifériás szinten fejtik ki.

A visszaépülés szerepe a monoaminok inaktivációjában

Gerinceseken végzett vizsgálatok szerint a szinaptikusan felszabadult monoaminok reakkumulációja egy lehetséges módja a hatás eliminálásának. Az aminok reakkumulációjának mechanizmusát a tavikagyló pedális ganglionjain vizsgáltuk, mikoris mértük a radioaktív szerotonin, dopamin és noradrenalin felvételét a pedális ganglionba [10]. A vizsgálatok azt mutatták, hogy mindhárom monoamin akkumulációjában egy nagy és egy alacsony affinitású rendszer vesz részt. Az akkumuláció aránya az amin koncentrációjának növelésével csökken és telítési görbével jellemezhető. A Lineweaver-Burk egyenes segítségével grafikusán meghatároztuk az affinitási koefficiensek (K_m) és a beépülés maximális sebességének (V_{max}) számértékét. E számértéket mindhárom aminra a II. táblázat mutatja.

II. TÁBLÁZAT

A ^{14}C -5HT, ^{14}C -DA és ^{14}C -NA akkumulációjának kinetikai paraméterei

amin	Nagy affinitású rendszer (uptake ₁)		Alacsony affinitású rendszer (uptake ₂)	
	K_{m1} (M)	V_{max1} (nmol/g/perc)	K_{m2} (M)	V_{max2} (nmol/g/perc)
5HT	$1,66 \times 10^{-6}$	0,66	$4,00 \times 10^{-5}$	4,74
DA	$2,50 \times 10^{-6}$	0,95	$3,33 \times 10^{-5}$	3,70
NA	$1,33 \times 10^{-6}$	0,55	$1,66 \times 10^{-5}$	3,33

A Michaelis-Menten egyenlet segítségével kiszámítottuk, hogy milyen mértékben járul hozzá a magas és az alacsony affinitású rendszer az aminok akkumulációjához. Mindhárom monoaminra azt találtuk, hogy alacsony koncentrációnál (10^{-6} M-ig) elsősorban a magas affinitású rendszer, míg magasabb koncentrációnál az alacsony affinitású rendszer működik közre az aminfelvételben.

6-hidroxidopamin (6-OHDA) és 5,6-dihidroxitriptamin (5,6-DHT) hatása

A gerinceseken végzett vizsgálatok igazolták, hogy a 6 OHDA a katecholaminerg, míg az 5,6- és 5,7-dihidroxitriptamin a szerotoninergerg neuronok szelektív degenerációját okozzák [1, 2, 3, 4, 11]. Tavi kagylón végzett vizsgálataink során a 6-OHDA-t lábizomba injektáltuk 25 mg/kg dózisban egyszeri adással, illetve háromszori injektálással 10–7,5–7,5 mg/kg dózisokban. A kezelés

jelentősen csökkentette a ganglion monoaminszintjét és befolyásolta az állatok aktivitását is. A 25 mg/kg dózisu 6-OHDA a NA szintet 30–40, a dopaminszintet 50–60%-kal csökkentette tartósan (4. ábra). A szerotoninszintben a 2. és 3. napon 20–25%-os csökkenés következett be, de a 4. napon már helyreállítódás volt észlelhető. Az aktivitásban bekövetkezett változás a szerotoninszint változással mutat korrelációt: a kezelés után tartós aktív periódus jelenik meg, melynek hossza (64,8 óra) az 5HT szint csökkenésének idejével egyezik meg.

Az 5,6-dihidroxitriptamint ugyancsak lábizomba injektáltuk 3×10 mg/kg dózisban kétnaponként. A dopamin és noradrenalin szintben szignifikáns változás nem következik be, és a szerotoninszint csökkenése sem nagyobb mint 30%, azonban a csökkenés tartós (5. ábra). A kezelés hatására az aktivitásban is jelentős változás mutatkozik. A kezelés kezdetén — 2–4 óra közötti időtartam alatt — nő a gyors ritmikus kontrakciók száma. Hosszú aktív periódus nem jön létre és a kezelés tartós hatása az aktív és a nyugalmi periódusok időtartamának jelentős mértékű csökkenésében nyilvánul meg.

Eredményeink azt mutatják, hogy az *Anodonta* periodikus aktivitásának szabályozása a monoaminerg rendszer részvételével történik. Az aktivitás fenntartásában a szerotoninerg rendszer játssza a fő szerepet. A katecholaminerg rendszer ezzel ellentétes hatást fejt ki, azonban szerepe a nyugalmi periódus fenntartásában jelenleg még nem határozható meg teljes egyértelműséggel. A két amincsoport dinamikus egymásrahatása is döntő lehet az aktivitás központi idegi szabályozási mechanizmusában.

ROLE OF MONOAMINES IN THE REGULATION OF THE ACTIVITY OF FRESH WATER MUSSEL (*ANODONTA CYGNEA* L.)

LÁSZLÓ HIRIPI

The activity of fresh water mussel is characterized by periodicity. This involves a regular alternation of active and rest phases lasting for several hours and is realized in different functioning of the adductor muscles and other organs [2, 15]. The rest period is characterized by a prolonged tonic contraction of the adductors, whereas during the active period the adductors are relaxed and perform fast, rhythmic contractions (Fig. 1). This periodicity of activity and rest of fresh water mussel corresponds to a primitive analogy of the sleep and wakefulness of vertebrate animals. The analogy is similar in that too, that both the periodic activity of mussel and the sleep and wakefulness of vertebrates is regulated by biogenic monoamines, mainly by serotonin (5HT), dopamine (DA) and noradrenaline (NA).

In the central nervous system of *Anodonta* the concentration of serotonin, dopamine and noradrenaline measured by spectrophotofluorimetric method was found 30–50 $\mu\text{g/g}$, 20–30 $\mu\text{g/g}$ and 1–2 $\mu\text{g/g}$, respectively [5, 8]. In peripheral tissues, for example in the adductor muscle, we could identify only serotonin. Earlier investigations show that serotonin has an important role in the relaxation of molluscan muscle like the adductor muscle of *Anodonta* [13] and the anterior byssus retractor muscle of *Mytilus* [20]. On *Anodonta* the peripheral effect of 5HT evokes a long-lasting active period with an increase of the

fast rhythmic contractions. Contrary to this catecholamines, dopamine and noradrenaline added into the water cause the shortening of the active periods and lengthening the rest one [8, 16]. In the adductor muscle, the serotonin concentration was found higher during the relaxation than during the tonic contraction [17]. The stimulation of cerebro-visceral connective causes the relaxation of the adductor muscle meanwhile the concentration of serotonin increases in the muscle. It is generally accepted that the contraction-relaxation cycle in the muscle is regulated by 5HT through changing the myoplasmic free Ca-ion concentration.

We have demonstrated, that 5HT is synthesized only in the nervous tissues and not in the muscle therefore 5HT necessary for the adductor muscle is delivered from CNS [6]. Besides the peripheral effect, the serotonergic and catecholaminergic system take place in the regulation of activity at the level of the central nervous system. It is suggested by the effect of serotonin at the central level too, by causing the relaxation of adductor muscle and increasing the activity [13]. The central regulation of activity by serotonergic and catecholaminergic system was also proposed by the differences of serotonin and catecholamine concentration measured in the opposite phase of activity. In the visceral ganglia the serotonin concentration was higher by 22 per cent at the beginning of the rest period than at the beginning of active period. The level of DA and NA showed an inverted change in the cerebral and visceral ganglia (*Table I*) [18].

TABLE I

5HT concentration measured in the visceral ganglia and the DA and NA concentration measured in the cerebral and visceral ganglia at the beginning of the active and rest periods (mean $\pm$ S. E.)

	beginning of		P
	activity $\mu\text{g/g}$	rest $\mu\text{g/g}$	
5HT	31.00 ± 0.92	38.20 ± 3.4	$P < 0.001$
DA	25.40 ± 2.05	19.20 ± 2.1	$P < 0.01$
NA	0.89 ± 0.08	0.71 ± 0.05	$P < 0.001$

The differences in the concentration of 5HT, DA and NA measured in the adductor muscle and ganglia at the opposite phase of the activity, as well as the effect of these transmitters proposed the predominance of serotonergic system during the active periods and that of the catecholaminergic system during the rest periods [18].

To evaluate more clearly the role of monoamines in the regulation of activity we influenced the synthesis, storage and the break-down of monoamines at the different steps of monoamine metabolism.

Effect of pCPA and α -MMT

For the inhibition of 5HT synthesis parachlorophenylalanine (pCPA) and that of the catecholamine synthesis α -methylmetatyrosine (α -MMT) was used [8, 18]. We have demonstrated that pCPA caused a significant and long-

lasting decrease of 5HT level in the ganglia, while the activity of animal was simultaneously decreased (*Fig. 2*). The decrease of activity can be interpreted by the fact that the 5HT transport decreases markedly in the adductor muscle owing to the inhibited 5HT synthesis of the CNS.

After α -MMT treatment the decrease of DA and NA level did not cause the increase of the activity but caused its decrease (*Fig. 3*). This effect of α -MMT can be interpreted by the fact that metaraminol formed from α -MMT releases noradrenaline which evokes the appearance of rest period.

Effect of monoamine oxydase inhibitors

In vitro investigations show that in the central nervous tissues of mussel the activity of MAO is low [7]. In examining the effect five different monoamine oxydase inhibitors — actomol, pargyline, nialamide, iproniazid, tranylcypromine — on the ganglionic level of serotonin, dopamine and noradrenaline it was found that neither of the examined inhibitors caused significant changes in the monoamine level [9]. However, some of the inhibitors influenced the activity by markedly decreasing the duration of the active period. The effect of inhibitors on the activity produced probably not on the CNS level but on the peripheral level.

Role of the re-uptake mechanism in the inactivation of monoamine

In vertebrate animals it has been demonstrated that the re-accumulation of the synaptically released monoamines is a possible mechanism for the elimination of their effect. The mechanism of amine accumulation was investigated in the pedal ganglia of *Anodonta* by measuring the amount of radioactive serotonin, dopamine and noradrenaline accumulated in the pedal ganglia [10]. The results have shown that all monoamines are accumulated by a high and a low affinity transport system. The accumulation ratio of amines decreased with increasing amine concentration showing a saturation process. Using the Lineweaver-Burk plots we estimated graphically the values of affinity constants and maximum velocity. These values are shown in *Table II*.

The Michaelis-Menten equation was used to calculate the relative contribution of the low and high affinity system to the total accumulation of the amines at

TABLE II
Kinetic constant for the accumulation of ^{14}C -5HT, ^{14}C -DA and ^{14}C -NA

Amine	High affinity system (uptake ₁)		Low affinity system (uptake ₂)	
	K _{m1} (M)	V _{max1} (nmol/g/min)	K _{m2} (M)	V _{max2} (nmol/g/min)
5HT	1.66×10^{-6}	0.66	4.00×10^{-5}	4.74
DA	2.50×10^{-6}	0.95	3.33×10^{-5}	3.70
NA	1.33×10^{-6}	0.55	1.66×10^{-5}	3.33

a variety of amine concentrations. We found for all amines that at low concentrations (to 10^{-6} M) the high affinity system while at high concentrations the low affinity system contributes a greater proportion to the total amine accumulation.

Effect of 6-hydroxydopamine (6-OHDA) and 5,6-dihydroxytryptamine (5,6-DHT)

Experiments carried out in vertebrates have demonstrated that 6-hydroxydopamine and 5,6- or 5,7-dihydroxytryptamine cause the selective degeneration of catecholaminergic and serotonergic neurones, respectively [1, 2, 3, 4, 11]. In our experiments 6-OHDA was injected into the foot muscle of *Anodonta* using a 25 mg/kg single dose or 10—7.5—7.5 mg/kg dose of 6-OHDA repeatedly. The treatment significantly decreased the monoamine level of ganglia and markedly influenced the activity. The single 25 mg/kg dose of 6-OHDA decreased the NA and DA level by 30—40 per cent and 50—60 per cent, respectively. The effect is a long-lasting one (Fig. 4). A 20—25 per cent decrease of 5HT level was detected on the second and third days but it was restored on the 4th day. The changes of activity coincide with the decrease of the serotonin level. After the treatment a long-lasting active period appeared and its duration (64.8 hours) was the same as the period of the 5HT decrease.

The 5,6-dihydroxytryptamine was also injected into the foot muscle three times in a dose of 10 mg/kg at every second days. There were no significant changes in the level of dopamine and noradrenaline and the decrease of serotonin level was not higher than 30 per cent, though it was a long-lasting one (Fig. 5). The treatment caused a significant change in the activity. In the first 2—4 hours, after treatment, the number of fast rhythmic contractions was increased. A long-lasting active period was not evoked and the treatment markedly decreased the duration of both active and rest periods.

Our results suggest that the monoaminergic system functions as a regulatory system of the periodic activity of *Anodonta*. It is mainly the serotonergic system which is responsible for the maintenance of activity. The effect of catecholaminergic system is antagonistic, however, its role in the maintenance of rest period is not yet clear. Probably the dynamic effect of these two monoaminergic systems on one another is an important moment in the central regulation of activity.

РОЛЬ БИОГЕННЫХ МОНОАМИНОВ В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ БЕЗЗУБКИ (*ANODONTA CYGNEA* L.)

ЛАСЛО ХИРИПИ

Активность беззубки характеризуется периодичностью. Периодичность состоит из чередования многочасовых периодов активности и периодов покоя, а также проявляется в различной деятельности запирающих мышц и в других функциях [12, 15]. Период покоя характеризуется длительным тоническим сокращением мышц, в то время как для активного периода характер-

ны расслабленное состояние мышц и быстрые, ритмические фазные их сокращения (*рис. 1*). Чередование активных периодов и периодов покоя у беззубки служит примитивным аналогом бодрствования и сна у высших животных. Аналогичность заключается в том, что в регуляции как периодической активности беззубки, так и в регуляции бодрствования и сна у высших животных большую роль играют биогенные моноамины серотонин (5НТ), допамин (DA) и норадреналин (NA).

В нервной системе беззубки с помощью метода спектрофлуориметрии было установлено, что концентрация серотонина, допамина и норадреналина была 30—50 мкг/г, 20—30 мкг/г и 1—2 мкг/г соответственно [5, 8]. В то же время в периферических участках, а также и в запирающей мышце было доказано только наличие серотонина. Результаты, полученные ранее, подтвердили важную роль серотонина как в расслаблении мышц моллюсков, так и в запирающих [13] и в мышце, втягивающей ногу беззубки [20]. Периферическое действие 5НТ у беззубок проявлялось в возникновении длительного активного периода, и в возрастании быстрых, ритмических сокращений во время этого периода. Противоположный эффект наблюдается при действии катехоламинов, DA и NA. В результате добавления DA и NA в воду в значительной мере уменьшается длительность активного периода и возрастает длительность периода покоя [8, 16]. Как было показано в наших исследованиях, концентрация серотонина в расслабленной мышце оказалась выше, чем во время тонического сокращения [17].

Электрическим раздражением cerebro-висцерального коннектива можно вызывать расслабление запирающей мышцы. В результате этого можно наблюдать увеличение концентрации серотонина в запирающей мышце. Согласно литературным данным расслабляющее действие серотонина в мышцах происходит главным образом в результате регулирования концентрации несвязанного, внутриклеточного кальция.

Нашими исследованиями было установлено, что синтез серотонина идет только в нервной системе и не наблюдается в запирающей мышце [6], таким образом, изменчивость содержания серотонина приписывается нервной системе. Кроме периферических действий как серотонинергическая, так и катехоламинергическая системы участвуют в регуляции активности и на уровне центральной нервной системы. Это подтверждается тем, что серотонин центрально вызывает расслабление запирающей мышцы и повышение активности [13]. Далее, в различных фазах активности, существенные различия были установлены в концентрациях катехоламинов. В начале периода покоя уровень серотонина оказался на 22% выше, чем в начале активного периода в висцеральном ганглии. Противоположные изменения наблюдались в концентрациях DA и NA в церебральном и висцеральном ганглиях (*Таблица 1*) [18].

Разница между концентрациями 5НТ, DA и NA в запирающей мышце и в ганглиях в разные фазы активности, а также эффекты действия этих веществ привели к выводу о том, что во время активного периода превалирует серотонинергическая, а во время периода покоя — катехоламинергическая система [18].

При подходе к изучению роли моноаминов, принимая во внимание известный путь метаболизма моноаминов, попытались получить дальнейшие данные о регуляции активности с изучением синтеза, хранения и распада моноаминов (*рис. 2*).

ТАБЛИЦА 1.

Концентрация 5НТ в висцеральном, и концентрация DA и NA в церебральном и висцеральном ганглиях в начале активного периода и периода покоя (среднее значение $\pm$ среднее отклонение)

	в начале активного периода	в начале периода покоя	Р
	мкг/г	мкг/г	
5НТ	$31,00 \pm 0,920$	$38,230 \pm 3,400$	$P < 0,001$
DA	$25,400 \pm 2,050$	$19,150 \pm 2,170$	$P < 0,010$
NA	$0,896 \pm 0,081$	$0,714 \pm 0,047$	$P < 0,001$

Влияние парахлорфенилаланина и α -метилметатирозина

Для блокирования синтеза 5НТ и катехоламинов были использованы вещества парахлорфенилаланин (рСРА) и α -метилметатирозин (α -ММТ) [8, 18]. Было установлено, что рСРА длительно и в значительной мере уменьшает уровень содержания 5НТ в ганглиях. Параллельно этому уменьшается и активность животных (рис. 3). Понижение активности животных связано в уменьшением транспорта в сторону запирательных мышц из-за блокирования синтеза 5НТ в нервной системе.

После обработки с α -ММТ снижение уровня DA и NA не вызывает повышения активности, а наоборот уменьшает её (рис. 4). Предполагается, что действие α -ММТ можно объяснить тем, что метараминол, возникающий из α -ММТ, освобождает NA, что способствует возникновению периода покоя.

Действие веществ, тормозящих моноаминоксидазу (МАО)

В опытах *in vitro* было установлено, что активность МАО в центральной нервной системе беззубки невысокая [7]. Исследуя эффект действия пяти различных соединений, блокирующих МАО, — актомоль, паргилин, ниаламид, ипрониазид и транилиципромин — на содержание 5НТ, DA и NA в ганглиях, было установлено, что ни один из них не вызывает значительного изменения в уровне моноаминов и ганглиях [9]. Несмотря на это, активность была в значительной мере изменена под влиянием некоторых блокирующих веществ, так как уменьшили среднюю продолжительность активного периода. Предполагается, что тормозное действие выше перечисленных веществ развивается не на уровне центральной нервной системы, а на периферии.

Роль реаккумуляции в инактивации моноаминов

Согласно результатам исследований, полученным на позвоночных, было установлено, что реаккумуляция медиаторов из синаптической щели является одним из возможных способов в устранении эффекта. Механизм реаккумуляции аминов был исследован на pedalном ганглии беззубки с помощью

меченого серотонина, допамина и норадреналина [10]. Исследования доказали существование двух систем аккумуляции моноаминов: одна с низким сродством, а вторая с высоким сродством. Пропорция аккумуляции с возрастанием концентрации аминов в инкубационном растворе понижается и характеризуется кривой насыщения. В системе двойных обратных координат были определены графически константа сродства (K_m) и максимальная скорость аккумуляции (V_m). Значения этих констант приведены в *Таблице II*.

ТАБЛИЦА II.

Кинетические параметры аккумуляции ^{14}C -5HT, ^{14}C -DA и ^{14}C -NA

амин	система с высоким сродством (uptake_1)		система с низким сродством (uptake_2)	
	K_{m1} (M)	$V_{\text{max}1}$ нмоль/г/мин	K_{m2} (M)	$V_{\text{max}2}$ нмоль/г/мин
5HT	$1,66 \times 10^{-6}$	0,66	$4,00 \times 10^{-5}$	4,74
DA	$2,50 \times 10^{-6}$	0,95	$3,33 \times 10^{-5}$	3,70
NA	$1,33 \times 10^{-6}$	0,55	$1,66 \times 10^{-5}$	3,33

С помощью уравнения Михаелиса—Ментена было подсчитано участие систем с низким и высоким сродством в аккумуляции аминов. Было обнаружено, что в случае всех трех моноаминов, при низких концентрациях аккумуляция, главным образом, происходит за счёт системы с высоким сродством, а при высоких концентрациях аккумуляция осуществляется за счёт системы с низким сродством.

Влияние 6-гидроксидопамина (6-OHDA) и 5,6-дигидрокситриптамина (5,6-DHT)

Опыты, проведенные на позвоночных животных, подтвердили, что 6-OHDA вызывает селективную дегенерацию катехоламинергических, 5,6-DHT, и 5,7-DHT серотонинергических нейронов [1, 2, 3, 4, 11]. Во время опытов на беззубках 6 OHDA была введён в ногу в дозе 25 мг/кг при однократном введении, а при трехкратном введении в дозах 10—7,5—7,5 мг/кг. После введения веществ уровень моноаминов в ганглии, а также активность животных, в значительной мере уменьшились. В результате эффекта действия 6 OHDA уменьшался уровень NA на 30—40%, а уровень DA на 50—60% (рис. 5). Концентрация серотонина на 2-ой и на 3-ий день уменьшалась на 20—25%, но на 4-ий день уже наблюдалось восстановление исходного количества. Изменение в активности коррелирует с изменением концентрации серотонина: после обработки животного следует длительный активный период, время которого (64,8 часов) совпадает со временем уменьшения концентрации 5HT.

5,6-дигидрокситриптамин также был инъецирован в мышцу ноги в дозах 3×10 мг/кг через день. В концентрациях допамина и норадреналина достоверного изменения не наблюдалось. Понижение концентрации серото-

нина не превосходит 30%, но это понижение является устойчивым (рис. 5). В результате обработки в значительной мере изменяется и активность. В начале обработки — между 2 и 4 часами после обработки — число быстрых ритмических сокращений возрастает. Длительный активный период не возникает, и длительный эффект обработки проявляется в значительном понижении длительности активных периодов и покоя.

Участие моноаминергической системы в регуляция ритмической активности беззубки подтверждается нашими данными. В поддержании активности главную роль играет серотонинергическая система. Катехоламинергическая осуществляет противоположное этому действие, но её роль в поддержании периода покоя ещё полностью не установлена. Динамическая взаимосвязь между двумя аминными группами может быть также решающей в механизме регуляции активности центральной нервной системы.

IRODALOM — REFERENCES — ЛИТЕРАТУРА

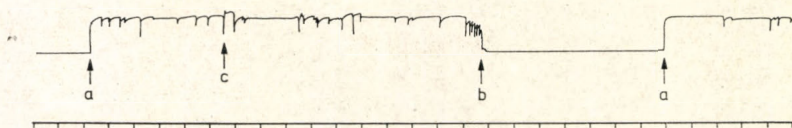
1. BAUMGARTEN, H. G., A. BJÖRKLUND, A. NOBIN, E. ROSENGREN, H. G. SCHLOSSBERGER (1975): Long-term effects on monoamine content and fluorescence morphology of central monoamine neurons. — *Acta physiol. scand., suppl.* **429**, 7—27.
2. BJÖRKLUND, A., A. S. HORN, H. G. BAUMGARTEN, A. NOBIN, H. G. SCHLOSSBERGER (1975): In vitro studies on monoamine uptake inhibition and uptake impairment. — *Acta physiol. scand., suppl.* **429**, 31—60.
3. BLOOM, F. E., S. ALGERI, A. GROPPET, A. REVUELTA, E. COSTA (1969): Lesions of central norepinephrine terminals with 6-OH-dopamine: Biochemistry and fine structure. — *Science* **166**, 1284—1296.
4. BREESE, G. R., T. D. TAYLOR (1970): Effect of 6-hydroxydopamine on brain norepinephrine and dopamine: Evidence for selective degeneration of catecholamine neurons. — *J. Pharmacol. exp. The.* **174**, 413—420.
5. HIRIPI, L. (1968): Paper chromatographic and fluorimetric examination of the serotonin content in the nervous system and other tissues of fresh-water molluscs. — *Annal. Biol. Tihany* **35**, 3—11.
6. HIRIPI, L., J. SALÁNKI (1969): 5HTP—DOPA decarboxylase in the nervous system and other tissues of *Anodonta cygnea* L. (Pelecypoda). — *Annal. Biol. Tihany* **36**, 19—24.
7. HIRIPI, L., J. SALÁNKI (1971): The role of monoamino oxidase in the inactivation of serotonin in the nervous system and other tissues of *Anodonta cygnea* L. — *Annal. Biol. Tihany* **38**, 31—38.
8. HIRIPI, L. (1972): Catecholamines in the different tissues of fresh-water mussel (*Anodonta cygnea* L., Pelecypoda) analysed by thin-layer chromatographic and fluorimetric methods. — *Annal. Biol. Tihany* **39**, 13—20.
9. HIRIPI, L., J. NEMCSÓK, J. SALÁNKI (1974): The effect of monoamine oxidase inhibitors on the ganglionic serotonin and catecholamine levels and on the activity in the fresh water mussel (*Anodonta cygnea* L., Pelecypoda). — *Annal. Biol. Tihany* **41**, 25—33.
10. HIRIPI, L., Z. RAKONCZAY, J. NEMCSÓK (1975): The uptake kinetics of serotonin, dopamine and noradrenaline in the pedal ganglia of the fresh water mussel (*Anodonta cygnea* L., Pelecypoda). — *Annal. Biol. Tihany* **42**, 21—28.
11. HÖKFELT, T., U. UNGERSTEDT (1973): Specificity of 6-hydroxydopamine neurons: An electron and fluorescence microscopic study with special reference to intracerebral injection on the nigro-striatal dopamine system. — *Brain Res.* **60**, 269—297.
12. MORTON, B. (1969): Studies on the biology of *Dreissena polymorpha*. II. Correlations of the rhythms of adductor activity feeding, digestion and excretion. — *Proc. Malac. Soc. London* **38**, 401.
13. SALÁNKI, J. (1963): The effect of serotonin and catecholamines on the nervous control of periodic activity in fresh water mussel (*Anodonta cygnea* L.). — *Comp. Biochem. Physiol.* **8**, 163—171.

14. SALÁNKI, J., L. BALLA (1964): Ink-level equipment for continuous recording of activity in mussels. — *Annal. Biol. Tihany* **31**, 117—121.
15. SALÁNKI, J., F. LUKACSOVICS (1967): Filtration and O₂ consumption related to the periodic activity of fresh water mussel (*Anodonta cygnea* L.). — *Annal. Biol. Tihany* **34**, 85—98.
16. SALÁNKI, J., E. LÁBOS (1969): On the role of cholinergic, adrenergic and tryptaminergic mechanism in the regulation of a "catch" muscle (*Anodonta cygnea* L.). — *Annal. Biol. Tihany* **36**, 77—93.
17. SALÁNKI, J., L. HIRIPI (1970): Increase of serotonin in the adductors of *Anodonta cygnea* L. (Pelecypoda) relaxed by nerve stimulation and in relation to the periodic activity. — *Comp. Biochem. Physiol.* **32**, 629—636.
18. SALÁNKI, J., L. HIRIPI, J. NEMCSÓK (1974): Regulation of periodicity by monoamines in the mussel *Anodonta cygnea* L. — *J. interdiscipl. Cycle Res.* **5**, 277—285.
19. VÉRÓ, M., J. SALÁNKI (1969): Inductive attenuator for continuous registration of rhythmic and periodic activity of mussels in their natural environment. — *Med. and Biol. Engng.* **7**, 235—237.
20. TWAROG, B. M. (1966): Catch and the mechanism of action of 5-hydroxytryptamine on Molluscan muscle: a speculation. — *Life Sci.* **5**, 1201—1213.

HIRIPI LÁSZLÓ

H-8237 Tihany

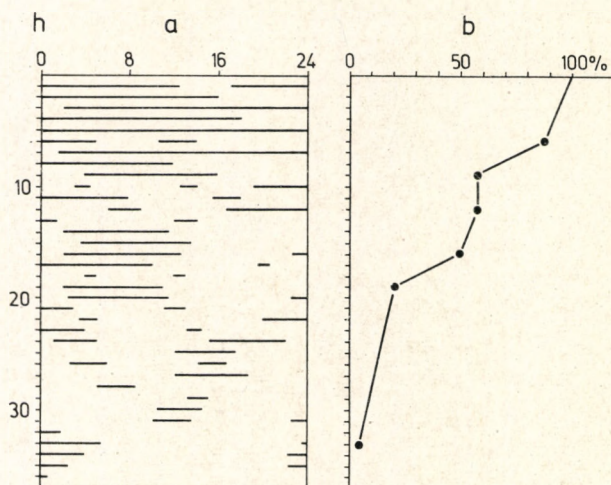
Biológia, Hungary



1. ábra. A tavikagyló aktográfál (14) vagy mozgásindikátorral (19) regisztrált aktivitása. a — az aktív periódus kezdete; ab — az aktív periódus; b — nyugalmi periódus kezdete; ba — nyugalmi periódus; c — fázisos, gyors kontrakció; időskála: óra

Fig. 1. The activity of fresh-water mussel registered with actograph (14) or a special movement indicator (19). a — beginning of activity; ab — active period; b — beginning of rest; ba — rest period; c — phasic, fast contraction; time scale: hours

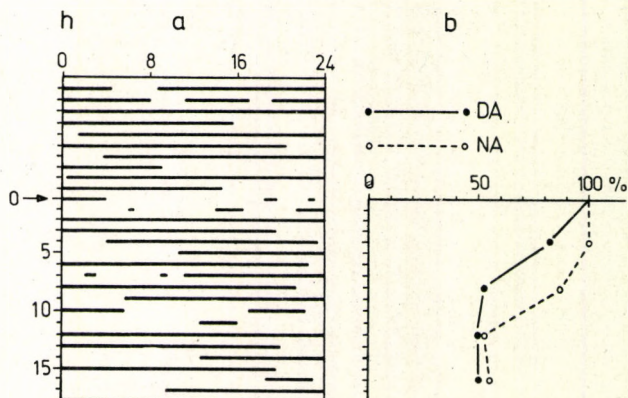
Рис. 1. Активность беззубки, зарегистрированная с помощью актографа (14) или индикатора движения (19): a — начало активного периода; ab — период активности; b — начало периода покоя; ba — период покоя; c — быстрое фазное сокращение; калибровка времени: 1 час



2. ábra. Az aktivitás és a szerotoninszint változása pCPA kezelés után. a — az aktivitás változása. A folyamatos vonal az aktív periódus időtartamát jelöli. A vízszintes tengelyen az órák, a függőleges tengelyen a napok számát tüntettük fel; b — A szerotoninszint változása a pCPA kezelés után. A vízszintes tengelyen az 5HT szint csökkenését a kontroll %-ában, a függőleges tengelyen a napok számát tüntettük fel

Fig. 2. Change of activity and 5HT level after pCPA treatment. a — Change of activity. The continuous line represents the active period. On the abscissa number of hours, on the ordinate number of days are indicated; b — Change of 5HT level after pCPA treatment. On the abscissa the decrease of 5HT level in percent of control, on the ordinate number of days are indicated

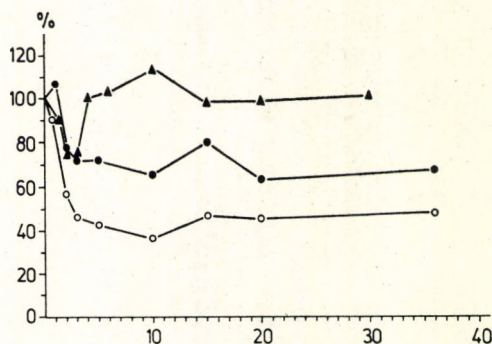
Рис. 2. Изменения активности и уровня моноаминов после обработки ганглия с pCPA. a — Изменение активности. Непрерывная линия представляет собой длительность активного периода. По горизонтали — время в часах, по вертикали — количество дней; b — Изменение уровня 5HT после обработки. По оси абсцисс представлено уменьшение уровня 5HT в процентах, по оси ординат — количество дней



3. ábra. Az α -MMT hatása az aktivitásra és a MA szintre. *a* — Az aktivitás változása α -MMT kezelés után. A folyamatos vonal az aktív periódus időtartamát jelöli. A vízszintes tengelyen az órák, a függőleges tengelyen a napok számát tüntettük fel. 0 $\rightarrow$: a kezelés időpontja; *b* — A dopamin- (DA) és noradrenalin- (NA) szint változása kezelés után. A vízszintes tengelyen a DA és NA szint csökkenése a kontroll %-ában, a függőleges tengelyen a napok száma van feltüntetve

Fig. 3. Effect of α -MMT on the activity and on the MA level. *a* — Change of the activity after α -MMT treatment. The continuous line represents the active period. On the abscissa number of hours, on the ordinate number of days are indicated. 0 $\rightarrow$: time of treatment; *b* — Change of dopamine (DA) and noradrenaline (NA) level after the treatment. On the abscissa the decrease of DA and NA in percent of control, on the ordinate number of days are indicated

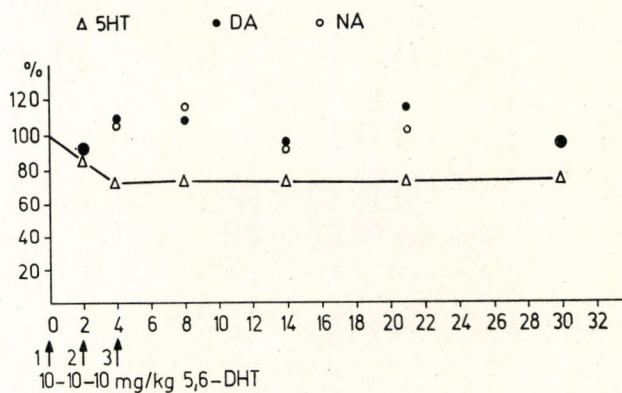
Рис. 3. Влияние α -MMT на активность и на уровень моноаминов. *a* — Изменение активности после обработки с α -MMT. Непрерывная линия представляет собой длительность активного периода. По оси абсцисс представлены часы, по оси ординат количество дней. 0 $\rightarrow$: момент обработки; *b* — Изменение уровня допamina (DA) и норадреналина (NA) в результате обработки. По горизонтали представлено в процентах уменьшение уровня DA и NA, по вертикали количество дней



4. ábra. 25 mg/kg 6-hidroxidopamin hatása a monoaminszintre. A függőleges tengelyen a monoaminszintet a kontroll %-ában, a vízszintes tengelyen a napok számát tüntettük fel. $\blacktriangle$ — $\blacktriangle$ — $\blacktriangle$ szerotonin; $\circ$ — $\circ$ — $\circ$ dopamin; $\bullet$ — $\bullet$ — $\bullet$ noradrenalin

Fig. 4. Effect of 25 mg/kg 6-hydroxydopamine on the monoamine level. On the ordinate the level of monoamine in percent of control, on the abscissa number of days are indicated. $\blacktriangle$ — $\blacktriangle$ — $\blacktriangle$ serotonin; $\circ$ — $\circ$ — $\circ$ dopamine; $\bullet$ — $\bullet$ — $\bullet$ noradrenaline

Рис. 4. Изменение уровня моноаминов после инъекции 25 мг/кг 6-гидроксидопamina. По оси ординат — количество различных моноаминов в процентах, по оси абсцисс — количество дней. $\blacktriangle$ — $\blacktriangle$ — $\blacktriangle$ серотонин; $\circ$ — $\circ$ — $\circ$ допамин; $\bullet$ — $\bullet$ — $\bullet$ норадреналин



5. ábra. 3×10 mg/kg 5,6-dihidroxitriptamin hatása a monoaminszintre. A függőleges tengelyen a monoaminszintet a kontroll %-ában, a vízszintes tengelyen a napok számát tüntettük fel

Fig. 5. Effect of 3×10 mg/kg 5,6-dihydroxytryptamine on monoamine level. On the ordinate the level of monoamine in percent of control, on the abscissa number of days are indicated

Рис. 5. Влияние 3×10 мг/кг 5,6-дигидрокситриптамина на уровень моноаминов. Обозначения см. на рис. 4