

ЗАХВАТ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ АМИНОКИСЛОТ В СИНАПТОСОМАХ МОЗГА ПРИ СИНДРОМЕ ДЛИТЕЛЬНОГО СДАВЛИВАНИЯ

Г.Л. МАРУХЯН, Г.А. ГЕВОРКЯН, А.А. ГАЛОЯН

Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыана НАН Армении, 375014, Ереван

*Синдром длительного сдавливания - синаптосомы мозга - нейромедиаторные
аминокислоты*

Синдром длительного сдавливания (СДС) - тяжелый вид травматического повреждения организма и нарушения метаболизма. Патогенез СДС сопровождается острой токсемией, нейрорефлекторными повреждениями, интоксикацией головного мозга путем проникновения токсинов через периферическую нервную систему. СДС сопровождается активацией микроглии, играющей ключевую роль в защите нейрональной паренхимы от инфекций, нейродегенерации, ишемии мозга. Длительное сдавливание периферических нервов сопровождается трансформацией микроглии в цитотоксические клетки, вызывающие поражение ЦНС [3]. Выявлено вовлечение Ca^{2+} - независимой протеинкиназы С в процесс регенерации нервной системы [6]. Сдавливание мягких тканей сопровождается гемодинамическим шоком, нарушением электролитного состава, миоглобинуремическим повреждением почек, вплоть до проникновения миоглобина в мозг [7]. Сдавливание седалищного нерва вызывает многократное активирование цАМФ-зависимой фосфодиэстеразы мозга и служит началом развития дегенеративных повреждений мозга и демиелинизации нервной ткани. В нейрональной фракции мозга протекает обмен специфических нейропептидов, включающихся в патогенез нервной ткани и в индуцирование нейропатической боли, сопровождающейся активированием пептида, ответственного за генез кальцитонина [9,10].

Одним из важных звеньев патогенеза СДС является нарушение передачи нервного импульса в ЦНС, осуществляемое включением нейромедиаторных аминокислот (НМА) в цепь передачи нервного импульса и, особенно, процесса обратного захвата нервными окончаниями этих аминокислот.

Целью настоящего исследования явилось выявление особенностей

специфического захвата НМА в синапсосомах мозга крыс при СДС.

Материал и методика. Эксперименты проводили на беспородных белых крысах-самцах весом 180-220 г. Модель СДС получали путем сдавливания мягких тканей бедренной мышцы крыс на специальной установке с силой 100 кг на 1 кг веса животного продолжительностью 2 часа. Очищенную синапсосомальную фракцию мозга крыс получали по методу Хайюша [4]. Определение захвата проводили по методу Хенна и Хамбергера [5] с использованием радиоактивных аминокислот [^{14}C] - гамма-аминомасляной (ГАМК (медиатор торможения), $^{14}\text{C(U)}$ - глутаминовой (ГК) и $^{14}\text{C(U)}$ - аспарагиновой кислот (АК) (медиаторы возбуждения). Инкубационная среда содержала 10^{-5} М немеченой аминокислоты, 0,05 мкКи/мл соответствующей ^{14}C - аминокислоты, 10^{-5} М аминоксиуксусной кислоты (АОУК) в качестве ингибитора трансаминаз. Средой поглощения аминокислот служил модифицированный буфер Кребса-Гензеляйта, содержащий в мкМ: трис - HCl буфер - 25, pH 7,4; NaCl - 127,2; KCl - 5; CaCl₂ - 1,3; MgSO₄ - 1,3; глюкозу - 11,1. Инкубацию проводили в атмосфере воздуха при 37° и постоянно встряхивании. После инкубирования пробы переносили на мембранные фильтры Миллипор DA 0,65 и переносили во флаконы с 0,5 мл спирта и 5 мл сцинтиллятора Брея. Уровень радиоактивности просчитывали на сцинтилляционном спектрометре SL-4221 (Intertechique, Франция). Данные выражали в распадах/минуту/мг белка. Белок определяли по методу Скопеса [8].

Результаты и обсуждение. Результаты проведенных исследований показали, что уровень специфического захвата исследуемых нейромедиаторных аминокислот в синапсосомах мозга интактных крыс распределяется в следующем порядке возрастания ГАМК - АК - ГК в соотношении, примерно равном 1:2:3.

Экспериментальное 2-часовое сдавливание мягких тканей бедра сопровождается интенсификацией процессов синапсосомального захвата ГАМК - на 53%, ГК - на 58% и АК - на 50% (табл. 1).

Таблица 1. Захват нейромедиаторных аминокислот в синапсосомах мозга крыс при 2-часовом СДС

^{14}C -ГАМК		^{14}C -ГК		^{14}C -АК	
Контроль	СДС	Контроль	СДС	Контроль	СДС
35630±870	54460±1370	96070±2630	151630±2970	68390±3410	102430±3620

Примечание: Достоверность: $P < 0,001$, $n=5$. Данные выражены в распадах/минуту/мг белка.

По имеющимся в литературе экспериментальным данным, одним из общепринятых звеньев в патогенезе СДС является нейрорефлекторная теория, согласно которой травматический шок и стресс развиваются в результате чрезмерной и неадекватной афферентации из поврежденного участка, в результате травмы сопровождающейся избыточным выбросом катехоламинов и нейротрансмиттерных аминокислот. Еще одним вероятным путем повышения содержания катехоламинов является воздействие гуморальных факторов, поступающих из разможженных тканей и стимулирующих синтез нейромедиаторов путем активации мозгового слоя надпочечников [1, 2].

Как уже было отмечено, в интактной клетке синапсосомальный захват нейротрансмиттерных аминокислот отличается и зависит, по всей вероятности, от выполняемой функции. Высокий уровень захвата ГК и

значительно низкий - захвата ГАМК можно трактовать высокой глутаматдекарбоксилазной активностью, в результате которой количество ГАМК возрастает за счет ГК, что и поддерживает нормальное физиологическое и биохимическое состояние мозга динамическим уравниванием количества фармакологических агентов возбуждения и торможения. Необходимо также отметить, что все вышеизложенные проблемы нормального функционирования мозга находятся под непосредственным контролем системы вторичных мессенджеров - NO, цАМФ, Ca²⁺. Показано, что повреждение седалищного нерва после сдавливания мягких тканей бедра сопровождается заменой N-концевой аминокислоты белков на аргинин, что было названо аргинилизацией белков. Находясь в непосредственной близости с нервными сегментами, такие белки формируют вокруг них водонерастворимые, однако растворимые в мочеvine агрегаты. Аргинилированные белки, проникая в мозг, вызывают его повреждение путем увеличения активности (регуляция вверх), когда низкая интенсивность стимуляции рецепторов приводит к увеличению числа и плотности рецепторов, реагирующих на этот белок. Следовательно, подобные белки под воздействием специфических протеаз, активность которых повышается при стрессорных реакциях и шоках различного происхождения, увеличивают количество NO, которое, вполне возможно, оказывает свое регуляторное воздействие на захват нейромедиаторных аминокислот в мозге животных при СДС [7, 11].

ЛИТЕРАТУРА

1. Ованесян Р.А. Автореф. докт. дисс., 1993, Ереван.
2. Ованесян Р.А., Шердукалова Л.Ф., Хачатрян С.А. Мед. наука Армении, 36, 3-4, 33-38, 1996.
3. Chulder E.H., Anderson L.C., Byers M.R. Pain, 101, 6, 141-149, 1997.
4. Hajos F. Brain Res., 93, 3, 485-493, 1975.
5. Henn F., Hamberger A. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 68, 11, 2686-2692, 1971.
6. Kawano S., Okajima S., Mizoguchi A., Tamai K., Hirasawa Y., Ide C. Neuroscience, 81, 1, 263-273, 1997.
7. Rubinstein I., Abassi Z., Coleman R., Coleman R., Milman F., Winaver J., Better O.S. J. Clin. Invest., 101, 6, 1325-1333, 1998.
8. Scopes R.K. Anal. Biochem., 59, 1, 277-285, 1974.
9. Walikonis R.S., Poduslo J.F. J. Biol. Chem., 273, 15, 9070-9077, 1998.
10. Walikonis R.S., Poduslo J.F. Clin. Chim. Acta., 15, 907-978, 1998.
11. Wang Y.M., Ingoglia N.A. Neurochem. Res., 22, 12, 1453-1459, 1997.

Поступила 22.XII.1998