

УДК 612.82.3.018:612.822.3.001.6

ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГАСТРИНОПОДОБНОГО ПЕПТИДА В МОЗГУ КРОЛИКОВ ПРИ ПИЩЕВОМ ПОВЕДЕНИИ, ВЫЗВАННОМ СТИМУЛЯЦИЕЙ ЛАТЕРАЛЬНОГО ГИПОТАЛАМУСА

Громов А. И., Громова Н.В., Судакова С.К.

*НИИ нормальной физиологии им. П. К. Анохина
АМН СССР, Москва*

В ЦНС множества видов животных, стоящих на разных эволюционных ступенях (от червей до человека), обнаружена иммунореактивность к антисывороткам, реагирующим с гастрином [1—5]. Однако функции гастриноподобного материала в ЦНС до настоящего времени остаются до конца не выясненными.

На основании электрофизиологических и поведенческих экспериментов было сделано предположение, что пищевое мотивационное возбуждение, достигая нервных клеток коры мозга, вызывает активацию их генетического аппарата и синтез гастриноподобного пептидного фактора [6]. Нарушение данного процесса либо при подавлении реализации генетической информации в ЦНС внутрижелудочковым введением блокаторов синтеза белка [7], либо при связывании гастриноподобного фактора введением антигастриновых антител [8] приводит к подавлению возможности формирования пищевого поведения. Исходя из этого, можно думать о том, что уровень гастриноподобного фактора ЦНС изменяется в зависимости от состояния функциональной системы питания.

Задачей данной работы было определение гастриноподобной иммунореактивности в сенсомоторной коре мозга и гипоталамусе кроликов после стимуляции латерального гипоталамуса, вызывающей пищевое поведение, а также после внутрижелудочкового введения блокатора синтеза циклогексимида. Гастриноподобную иммунореактивность определяли также в жидкости, перфузируемой через боковые желудочки мозга кроликов до и во время пищевого поведения, вызванного стимуляцией латерального гипоталамуса.

Эксперименты были проведены на 3 группах кроликов-самцов породы шиншилла массой 2,5 кг (по 3 животных в каждой группе): 1 — кролики, имевшие свободный доступ к пище; 2 — кролики, имевшие свободный доступ к пище, которым в течение 40 мин перед извлечением мозга наносили электрические стимуляции латерального гипоталамуса; 3 — предварительно накормленные кролики, которым в боковые желудочки мозга вводили 85 мкг/кг циклогексимида и наносили электрические стимуляции латерального гипоталамуса до полного подавления пищевых реакций животного. Известно, что введение такой дозы антибиотика оказывает

наиболее выраженное действие на пищевые реакции кроликов [7] при подавлении синтеза белка в мозгу через 1 ч после введения на 70—90% [9—10].

У всех кроликов извлекали мозг и выделяли по 0,1—0,2 г ткани сенсомоторной коры и гипоталамуса. Затем к ткани мозга добавляли мединаловый буфер (рН 8,4) из расчета 1 мл на 100 мг ткани и гомогенизировали до получения тонкой суспензии. После этого гомогенат помещали в водяную баню на 10 мин, после чего производили центрифугирование при 4500 г в течение 5 мин. Дальнейшее исследование проводили в сериях разведения надосадочной жидкости 1 : 100, 1 : 100 и 1 : 1000 методом конкурентного радиоиммунного анализа по следующей схеме: 1) приготовление трех групп растворов — «Т групп» — 100 мкл раствора ^{125}I гастрина; «С групп», содержащих 100 мкл раствора ^{125}I гастрин, 100 мкл стандартного раствора гастрин и 300 мкл антигастриновой антисыворотки; «Сх групп», содержащих 100 мкл раствора ^{125}I гастрин, 100 мкл раствора, приготовленного ранее из мозга исследуемых кроликов и 300 мкл антигастриновой антисыворотки; 2) инкубация в течение 2 ч при температуре 18—25°; 3) добавление во все пробирки (кроме «Т групп») 1 мл преципитирующего раствора, содержащего полиэтиленгликоль, азид натрия, буфер и нерастворимый комплекс из овечьих антикроличьих γ -глобулинов и неиммунных γ -глобулинов кролика; 4) инкубация в течение 15 мин при температуре 18—25°; 5) центрифугирование пробирок (кроме «Т групп») при 4000 г в течение 15 мин и отделение супернатанта; 6) измерение радиоактивности преципитата на γ -счетчике; 7) расчет содержания гастриноподобного пептида в исследуемых пробах.

Данный раздел работы выполнен с использованием методики, реактивов и оборудования, представленного фирмой «Орис индустри С.А.» (Франция). Эксперименты по определению гастриноподобной иммунореактивности в перфузируемой через желудочки мозга жидкости проведены на 3 сытых кроликах-самцах массой 2,5 кг. Каждому кролику вживляли биполярные нихромовые электроды в латеральный гипоталамус слева и двустольную стальную канюлю (диаметр кончиков 0,6 мм) в боковой желудочек мозга справа. По одному из каналов канюли в желудочки мозга кролика при помощи микронасоса подавали раствор Рингера со скоростью 30 мкл/мин. По второму каналу канюли с такой же объемной скоростью выводили содержимое желудочков. Через 1 ч после начала перфузии производили стимуляцию латерального гипоталамуса (10 мин), что приводило к постоянному потреблению в это время находящейся перед кроликами моркови. Из отводящего ствола внутрижелудочковой канюли собирали перфузат в течение 10 мин до начала стимуляции латерального гипоталамуса (I проба) и во время стимуляции (II проба). Далее определяли содержание в пробах гастриноподобного материала по методу «Орис индустри С. А.», описанному выше.

Результаты обрабатывали на персональном компьютере «Apriko KZEN-A 45 SD» (Англия), используя пакет программ «Microstat» (США).

Было обнаружено, что в сенсомоторной коре мозга интактного кролика содержится $100 \pm 5,5$ пг/г гастриноподобного материала, в ткани гипоталамуса — $45 \pm 3,2$ пг/г ткани. Стимуляции латерального гипотала-

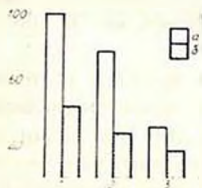


Рис. Уровень гастриноподобного пептида в сенсомоторной коре (1) и гипоталамусе (2) интактных кроликов (I) после стимуляции гипоталамуса (II) и у кроликов, которым был введен циклогексимида (III). По оси ординат — количество иммунореактивного материала в пг/г ткани

муса, сопровождающиеся пищевыми реакциями, приводили к снижению уровня гастриноподобного фактора как в коре, так и в гипоталамусе соответственно на 24 и 39% ($p < 0,05$). Значительное снижение уровня гастриноподобного материала (в 3,3 раза в коре и в 2,8 в гипоталамусе) было обнаружено у животных, у которых в результате введения 85 мкг/кг циклогексимида происходило полное подавление пищевых реакций на стимуляцию латерально-го гипоталамуса (рисунок).

В перфузируемом через боковые желудочки мозга сытых кроликов растворе Рингера нами не было обнаружено гастриноподобной иммунореактивности. Тем не менее, в перфузате, собранном во время потребления животными пищи, вызванного стимуляциями латерального гипоталамуса, было выявлено гастриноподобного фактора $53,5 \pm 22,1$ пг/мл, что соответствует выделению в боковые желудочки мозга гастриноподобного фактора со скоростью 1,8 пг/мин.

Таким образом, из полученных данных можно заключить, что в ЦНС сытого животного имеется запас гастриноподобного фактора, который быстро расходуется при реализации пищевого поведения. Под влиянием пищевого мотивационного возбуждения происходит синтез гастриноподобного фактора как в нервных клетках коры, так и гипоталамуса. Блокада белкового синтеза препятствует образованию достаточного количества гастриноподобного пептида и в результате этого становится невозможной реализация пищевого поведения. Наши эксперименты позволяют предположить, что при стимуляции латерального гипоталамуса происходит выделение гастриноподобного фактора из ткани мозга в перинейрональное пространство и СМЖ, что и обеспечивает совершение животными пищевого поведения, направленного на удовлетворение исходной метаболической потребности.

VARIATION OF GASTRIN-LIKE PEPTIDE LEVEL IN RABBIT BRAIN DURING FEEDING BEHAVIOUR INDUCED BY STIMULATION OF LATERAL HYPOTHALAMUS

Gromov A. I., Gromova N. V., Sudakov S. K.

*Anokhin Institute of Normal Physiology,
USSR Academy of Medical Sciences, Moscow*

The level of gastrin-like immunoreactivity was studied in rabbit brain by concurrent radioimmunoassay method. Stimulation of lateral hypothalamus, which produced feeding behaviour, led to decreased level of gastrin-like immunoreactivity in sensorimotor cortex and hypothalamus. A significant decrease in gastrin-like immunoreactivity was observed after ICV administration of cycloheximide, which inhibited hypothalamus-induced feeding reaction.

Gastrin-like immunoreactivity was detected in the fluid perfused through lateral ventricles during continuous feeding induced by stimulation of lateral hypothalamus. There was no gastrin-like material in the liquor of fed rabbits in the absence of hypothalamic stimulation or feeding.

ЛИТЕРАТУРА

1. Van der Haegen J.J., Signeau J.C., Gepts W. *Nature*, v. 256, p. 604—609, 1975.
2. Rehfeld J.F. *J. Biol.Chem.*, v. 253, p. 4022—4030, 1978.
3. Larson L.I., Rehfeld J.F. *Brain Res.*, v. 165, p. 201—218, 1979.
4. Dockray G.J., Duve H., Thorpe A. *Gener. Compar. Endocrin.*, v. 45, p. 491—496, 1981.
5. Nachman R.J., Holman G.M., Cook W.J., Haddon W.F., Ling N. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v.140, p.357—364, 1986.
6. Судаков С.К. *Вестн. Акад. мед. наук*, N 2, с. 40—46, 1985.
7. Судаков С.К. *Журн. высш. нервн. деят-сти*, т. 35, с. 465—472, 1985.
8. Судаков С. К. *Журн. высш. нервн. деят-сти*, т. 36, с. 391—393, 1986.
9. Ашмарин И.П., Ключарева Л.А. *Ингибиторы синтеза белка*, Л, Медицина, 1975.
10. Takamatsu K., Tsukada Y. *Neurochem. Res.*, v. 10, p. 1371—1391, 1985.

Поступила 14.02.1989.