



УДК 612.822.1:577.175.823; 615.212.7:547.95

## ИЗМЕНЕНИЕ ОБМЕНА БЕЛКОВ В ОТДЕЛЬНЫХ СТРУКТУРАХ МОЗГА КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТЕТРАПЕПТИДАМИДОМ (ЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

ХУДОЕРКОВ Р. М.

Институт мозга ВНЦ психического здоровья АМН СССР, Москва

Открытие анальгетических свойств опиоидных пептидов [1, 2] поставило вопрос о возможности их применения в клинике [3], в связи с чем необходимо всестороннее изучение их влияния на обмен веществ в мозгу.

В настоящей работе методами автордиографии и интерферометрии изучали 30-минутное воздействие энкефалиноподобного тетрапептида (ТПА) на обмен веществ в функционально различных нейронах, входящих в состав двигательной системы мозга крыс: пирамидные нейроны слоя III и крупные пирамидные нейроны слоя V сомоторной коры, а также нейроны хвостатого ядра.

Вначале трем контрольным и трем подопытным крысам-самцам линии *Wistar* массой 180,0—200,0 г вводили внутривенно на физиологическом растворе  $D, L\text{-Leu-2-}^3H_1$  (V. A. 8,8 мКи/ммоль, ЛМО «Изотоп») из расчета 4,5 мКи/100 г, а спустя 2,5 ч подопытным крысам внутривенно вводили ТПА ( $Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH_2^*$ ) в дозе 500 мкг/кг, а контрольным—физиологический раствор. Через 30 мин после инъекции ТПА ткань головного мозга крыс фиксировали в Карнуа, обезвоживали и заключали в парафиновые блоки попарно—контрольное животное с подопытным; срезы изготовляли толщиной 7 мкм. Для приготовления гисторадиоавтографов [4] использовали ядерную фотоэмульсию Р (Завод технических фотопластинок). Интенсивность включения  $^3H\text{-Leu}$  в белки нейронов оценивали по концентрации зерен серебра в радиоавтографах на автоматическом анализаторе видеоизображения Т. А. С. («Leitz-Wetzlar», ФРГ)\*\*. С этой целью определяли площадь, занимаемую зернами серебра над телами нейронов, площадь самих нейронов и искомую величину—концентрацию зерен серебра находили как частное от деления полученных результатов.

Сухую массу вещества в ядре и цитоплазме, равную содержанию белка в ткани [5], определяли на интерференционном микроскопе БНАМ Л-211 (ЛОМО) в монохроматическом свете ( $\lambda=535$  нм) с помощью поворотного анализатора Сенармона. Линейные размеры профильного поля ядра и цитоплазмы измеряли окулярмикромет-

\* Синтезирован в лаборатории синтеза пептидов ВКНЦ АМН СССР.

\*\* Автор искренне благодарит проф. Д. Д. Орловскую (Институт клинической психиатрии ВНЦ ПЗ АМН СССР) за предоставленную возможность работы на приборе.

Таблица

Влияние 30-минутного воздействия тетрапептидамидом на содержание и концентрацию белка в ядре и цитоплазме нейронов, а также на интенсивность включения  $^3\text{H}$ -Leu в белки нейронов и на показатель метаболизма белка в пирамидных нейронах слоев III и V сенсорной коры больших полушарий и нейронах хвостатого ядра мозга крыс

	Слой III			Слой V			Хвостатое ядро		
	контроль $\bar{x} \pm S_x$	опыт $\bar{x} \pm S_x$	отклонение от контроля, %	контроль $\bar{x} \pm S_x$	опыт $\bar{x} \pm S_x$	отклонение от контроля, %	контроль $\bar{x} \pm S_x$	опыт $\bar{x} \pm S_x$	отклонение от контроля, %
Площадь ядра	86,78 $\pm$ 2,85	86,11 $\pm$ 2,93	-1	152,05 $\pm$ 1,93	160,96 $\pm$ 2,18	+6	74,47 $\pm$ 0,92	74,07 $\pm$ 1,05	-1
Площадь цитоплазмы	85,73 $\pm$ 4,06	87,11 $\pm$ 3,73	+2	197,86 $\pm$ 3,95	219,45 $\pm$ 4,16	+11*	46,61 $\pm$ 1,41	45,15 $\pm$ 1,35	-3
Содержание белка в ядре	67,02 $\pm$ 7,66	58,79 $\pm$ 3,18	-12	167,66 $\pm$ 4,45	177,60 $\pm$ 4,66	+6	43,04 $\pm$ 1,52	43,19 $\pm$ 2,01	+3
Содержание белка в цитоплазме	212,22 $\pm$ 8,73	202,26 $\pm$ 9,46	-5	469,28 $\pm$ 14,35	550,68 $\pm$ 14,60	+17*	77,90 $\pm$ 3,96	78,76 $\pm$ 3,94	+1
Концентрация белка в ядре	0,67 $\pm$ 0,70	0,60 $\pm$ 0,30	-10	1,10 $\pm$ 0,02	1,10 $\pm$ 0,02	0	0,57 $\pm$ 0,02	0,58 $\pm$ 0,03	+2
Концентрация белка в цитоплазме	2,09 $\pm$ 0,10	2,10 $\pm$ 0,70	0	2,34 $\pm$ 0,05	2,48 $\pm$ 0,03	+6	1,59 $\pm$ 0,04	1,66 $\pm$ 0,05	+4
Интенсивность включения $^3\text{H}$ -Leu	0,480 $\pm$ 0,640	0,420 $\pm$ 0,03	-13	0,384 $\pm$ 0,010	0,414 $\pm$ 0,010	+8	0,196 $\pm$ 0,008	0,244 $\pm$ 0,007	+14*
Показатель метаболизма белка	6,56	5,57	-15	5,63	6,48	+15	2,25	2,56	+14

Примечание. В каждом образце мозга исследовано 150 нейронов у 3-х контрольных и 150 нейронов у 3-х подопытных крыс. Площадь ядра и цитоплазмы выражены в  $\mu\text{м}^2$ , содержание—в  $\mu\text{г}$  и концентрация белка—в  $\mu\text{г}/\mu\text{м}^3$ , интенсивность включения  $^3\text{H}$ -Leu (концентрация зерен серебра в радиоавтографе) и показатель метаболизма белка—в усл. ед. \* $p < 0,05$  по сравнению с контролем

ром МОВ-1—15. Концентрацию белка в изучаемых структурах находили как отношение содержания белка в них к площади их профильных полей (при заданной толщине среза—7 мкм).

Показатель метаболизма белка, количественно характеризующий взаимоотношение между содержанием белка и его синтезом в структуре [6], получали как отношение концентрации белка в цитоплазме нейрона к интенсивности автордиографической метки—концентрации зерен серебра в радиоавтографе, выраженной через десятичный логарифм. Полученные результаты обработаны статистически по Стьюденту-Фишеру.

Через 30 мин после введения ТПА (таблица) содержание белка достоверно повышалось на 17% только в цитоплазме нейронов слоя V, с достоверным увеличением и площади самой цитоплазмы на 11%, а концентрация белка в цитоплазме показала лишь тенденцию к увеличению на 6%. В нейронах слоя III и хвостатого ядра не было выявлено существенных изменений по исследуемым показателям. Достоверное увеличение на 14% включения  $^3\text{H}$ -Leu обнаружили только в белках нейронов хвостатого ядра. Показатель метаболизма белка повышался на 15 и 14% соответственно в нейронах слоя V и хвостатого ядра и уменьшался на 15% в нейронах слоя III.

Таким образом, проведенная работа показала, что под влиянием ТПА в период его анальгетического действия [1] значительных изменений в содержании и синтезе белка не наблюдается. Но в то же время, судя по показателю метаболизма белка, некоторые изменения в его обмене происходят в разных типах нейронов по-разному. В ассоциативных нейронах слоя III обмен белков несколько понижался, а в проекционно-эфферентных нейронах слоя V сенсомоторной коры и интегративно пусковых нейронах хвостатого ядра он повышался, но не в значительной степени. Скорее всего отмеченные изменения в белках являются отражением вторичных процессов, происходящих в обмене веществ в мозгу. Как следует из данных литературы [7], для этого периода действия ТПА характерны заметные и однонаправленные сдвиги в активности ферментов, связанных с обменом серотонина, и отсутствие изменений со стороны других классических нейромедиаторов. Содержание и концентрация белка существенно меняются, особенно в нейронах хвостатого ядра, на 3-и сутки после однократного введения ТПА [8] с появлением у животных двигательных расстройств [9], что, вероятно, обусловлено нарушением ряда обменных процессов [8, 10].

## EFFECT OF TETRAPEPTIDE AMIDE ON PROTEIN TURNOVER IN RAT BRAIN DIFFERENT STRUCTURES

KHUDOERKOV R. M.

Brain Research Institute, All-Union Research Center of Mental Health, USSR  
Academy of Medical Sciences, Moscow

Wistar rats were treated with an analogue of enkephalins Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH<sub>2</sub> (500 mcg/kg b. w.) and the quantitative cytochemical methods:  $^3\text{H}$ -Leu autoradiography and interferometry were used to assess

protein metabolism in the neurons of layer III and V of the motor cortex and n. caudatus during 30 min. No significant alterations in protein synthesis and content have been revealed, only a statistically reliable 14% increase in incorporation of  $^3\text{H}$ -Leu in neurons of n. caudatus was detected as well as 17% increase in the protein content in neurons of the layer V. A special factor used for the sake of a more accurate evaluation of protein metabolism points to appreciable effect of this enkephalin analogue on the protein turnover in the neurons of layer V and n. caudatus.

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Беспалова Ж. Д., Коробова Н. В., Титов М. И., Чиченков О. Н. Фармакология и токсикология, т. 45, № 2, с. 39—44, 1982.
2. Loew G., Hashimoto G., Williamson L., Burt S., Andersen W. Mol. Pharmacol., v. 22, p. 667—677, 1982.
3. Ашмарин И. П. Вопр. мед. химии, т. 30, № 4, с. 2—7, 1984.
4. Rogers A. W. Techniques of autoradiography. Elsevier Publishing Company. Amsterdam-London-New York, 1967.
5. Бродский В. Я. Трофика клетки, М., Наука, 1966.
6. Данилов Р. К. Цитология, т. 22, с. 481—488, 1980.
7. Попова Н. С., Доведова Е. Л. Журн. высш. нерв. деят-сти, т. 34, с. 926—931, 1984.
8. Герштейн Л. М., Доведова Е. Л., Узбеков М. Г., Голикова Т. Л., Сергутина А. В., Ашмарин И. П. Нейрохимия, т. 3, № 3, с. 236—243, 1984.
9. Келешева Л. Ф., Толпыго С. М. Журн. высш. нерв. деят-сти, т. 34, с. 169—171, 1984.
10. Узбеков М. Г. Бюл. эксперим. биол и мед., т. 95, № 2, с. 38—40, 1983.

Поступила 27. VI 1985