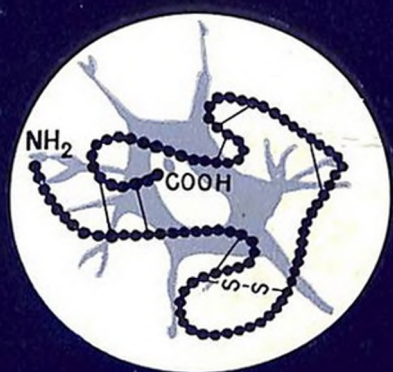


НЕЙРОХИМИЯ ՆԵՅՐՈՔԻՄԻԱ

ТОМ. 1. № 3. 1982

ISSN 0203-493X



АКАДЕМИЯ НАУК СССР
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР

НЕЙРОХИМИЯ

ՆԵՅՐՈՔԻՄԻԱ

ТОМ 1, ВЫП. 3
Июль—сентябрь

Журнал основан в 1982 году
Выходит 4 раза в год

ИЗДАТЕЛЬСТВО АН АРМЯНСКОЙ ССР
ЕРЕВАН 1982

Редакционная коллегия

А. А. ГАЛОЯН—главный редактор

Г. В. Априкян, А. В. Арутюнян (зам. главного редактора), Л. С. Арутюнян (отв. секретарь), Я. В. Белик, Н. Н. Демин (зам. главного редактора), К. Г. Карагезян, П. А. Кометиани, Е. М. Крепс, А. А. Кричевская, Р. М. Налбандян, М. Ш. Промыслов, В. И. Розенгарт, Л. Я. Тяхепылд, Г. С. Хачатрян

Редакционный совет

Н. Г. Алексидзе, С. В. Гастева, Р. Н. Глебов, Б. А. Казарян, Р. И. Кругликов, В. К. Лишко, В. Г. Мхитарян, В. С. Оганесян, М. И. Прохорова, А. Д. Рева, Д. А. Сахаров, А. А. Симонян, Т. М. Турпаев, А. М. Утевский, Е. М. Хватова, Л. С. Черкасова, Р. Н. Этингер



Сл. редактор В. С. Бегларян
Редактор И. Г. Апкарян
Техн. редактор Л. А. Азизбекян

Сдано в набор 6.07.1982 г. Подписано к печати 4.XI.1982 г. ВФ 01969.
Бумага № 1, 70×108¹/₁₆. Высокая печать. Печ. лист. 6,25. Усл. печ. лист. 8,75.
Учет.-изд. 8,09. Тираж 610. Заказ 806. Издат. 5780.
Адрес редакции: 375044, Ереван-44, ул. П. Севака, 5/1, т. 24-89-00, 24-89-54.
Издательство АН АрмССР, Ереван 19, Барекамутян 24-г.
Типография Издательства Академии наук АрмССР, Ереван-19, Барекамутян, 24.

К СВЕДЕНИЮ ЧИТАТЕЛЕЙ!

Подписку на журнал «Нейрохимия» можно осуществить во всех отделениях «Союзпечати». Индекс для подписки—77787. Периодичность журнала в 1983 году—4 номера в год. Цена одного номера—1 руб. 30 коп.

УДК 612.826.4:612.452.018—06:629.78

РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА КАТЕХОЛАМИНОВ В ГИПОТАЛАМУСЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА

ТИГРАНЯН Р. А., КВЕТНЯНСКИ Р.

Исследования обмена катехоламинов в гипоталамусе крыс в экспериментах на биоспутниках серии «Космос» показали, что только некоторые области гипоталамуса реагируют изменением содержания катехоламинов после космического полета (главным образом *p. arcuatus*, *p. periventricularis* и *eminencia medialis*). Пониженное количество адреналина и норадреналина в этих ядрах гипоталамуса является убедительным доказательством того, что крысы в момент приземления находились в состоянии стресса.

Гипоталамус, который является главным посредником между ЦНС и эндокринной системой, богато иннервирован катехоламинергическими волокнами и содержит относительно большие количества норадреналинергических, дофаминергических и адреналинергических волокон [1]. Присутствие катехоламинов (КА) в гипоталамусе крыс так же, как и их точная локализация в его отдельных ядрах, в последнее время были показаны точными биохимическими методами [2—8]. Одной из важных функций КА в гипоталамусе является их участие в регуляции секреции либеринов или гормонов и, следовательно, в регуляции деятельности почти всей эндокринной системы [9—12].

Длительный космический полет сопровождается многочисленными воздействиями, которые оказывают влияние на нейроэндокринные реакции, поэтому можно было бы предположить наличие изменений метаболизма КА в гипоталамусе под влиянием космического полета.

Настоящая работа и была посвящена исследованию концентрации КА и ферментов их превращений в гипоталамусе крыс после длительных космических полетов на биоспутниках «Космос-782», «Космос-936» и «Космос-1129»; длительность пребывания крыс в условиях космического полета составила в этих экспериментах 19—19,5 суток, что равно 1/50 жизни крыс.

Материалы и методы

Исследования проводили на крысах-самцах линии Вистар колонии СПФ (Братислава, ЧССР) с начальной массой 220 ± 5 г. Условия содержания животных на борту биоспутника были описаны Газенко и

др. [13]. Данные, полученные при исследовании летавших крыс, сравнивали с результатами исследований, проведенных на двух контрольных группах животных,—у интактных животных (виварный контроль) и у крыс в синхронном эксперименте, повторившем на Земле все условия жизни и содержания животных в полете, кроме невесомости. В экспериментах на биоспутниках «Космос-782» и «Космос-936» исследования проводили через 6—10 ч и 25—26 суток после завершения полетов. Гипоталамус выделяли сразу после декапитации животных, взвешивали, замораживали в жидком азоте и транспортировали в замороженном состоянии в лабораторию для последующего анализа; в полученных пробах определяли суммарную концентрацию КА [14], активность ферментов синтеза и распада КА: тирозин-гидроксилазы—ТГ [15], дофамин- β -гидроксилазы—ДБГ [15] и МАО [16].

В эксперименте на биоспутнике «Космос-1129» исследовали содержание КА в отдельных ядрах гипоталамуса у крыс, находившихся в условиях космического полета. Полетные животные (и животные соответствующих контрольных групп) были разделены на три группы: I группа была забита через 6—8 ч после приземления, II и III группы—через 6 суток, причем, если животные II группы с момента приземления и до их забоя никаким воздействиям не подвергались, то животные III группы сразу после приземления и на 3-й, 4-, 5- и 6-е сутки подвергались воздействию иммобилизации длительностью 150 мин (всего 5 иммобилизаций), забой крыс производили сразу же по завершении последней иммобилизации. Было изолировано из гипоталамуса 8 ядер, которые в основном содержат нервные окончания моноаминоэргических нейронов; в ядрах определяли концентрацию адреналина, норадреналина и дофамина радиоэнзиматическим методом [17, 18].

Результаты и обсуждение

Исследования, проведенные нами в эксперименте на биоспутнике «Космос-782», показали, что 19,5-суточный космический полет не вызвал изменений концентрации КА, а также активности ферментов их синтеза (ТГ и ДБГ) и распада (МАО) в гипоталамусе крыс [19].

Эксперимент, поставленный на биоспутнике «Космос-936», отличался той особенностью, что часть животных, экспонированных на нём, не была подвергнута невесомости благодаря непрерывному центрифугированию при 1 g. Такая постановка опыта позволила провести исследования по изучению адаптации организма к длительной невесомости и искусственной силе тяжести величиной 1 g. Проведенные нами исследования не выявили изменений концентрации КА у животных обеих полетных групп; активность КА-синтезирующих (ТГ и ДБГ) и КА-деградирующих (МАО) ферментов также не изменилась [20, 21]. Таким образом, проведенные на биоспутнике «Космос-936» исследования подтвердили данные, полученные на биоспутнике «Космос-782».

Изучение метаболизма КА в гипоталамусе крыс, перенесших дли-

тельный космический полет, имеет также важное значение для оценки стрессогенности продолжительного пребывания в невесомости.

При оценке стрессогенного эффекта космического полета важным является сравнение полученных результатов исследований находившихся в Космосе крыс с данными, полученными на животных, подвергнутых на Земле однократному или длительно повторяемому иммобилизационному стрессу. Если предположить, что крысы в течение космического полета находились под влиянием интенсивного хронического стресса, то после полета они бы реагировали на иммобилизационный стресс так же, как и крысы, подвергнутые продолжительно повторяемому стрессу; если же космический полет не был для них продолжительным стрессогенным импульсом, то эти крысы реагировали бы на иммобилизационный стресс после полета как животные, подвергнутые ему впервые.

В качестве модели стресса использовали иммобилизацию крыс [22]. Проведенные исследования показали [4], что концентрация КА в гипоталамусе при остром стрессе (однократная иммобилизация в течение 150 мин) значительно падала, причем это понижение было отмечено уже на 5-й мин иммобилизации и достигало максимума на 60-й мин, оставаясь на том же низком уровне и к концу иммобилизации; уменьшение концентрации КА в гипоталамусе коррелировало с повышением концентрации кортикостерона и АКТГ в плазме крови. После повторяемого стресса (иммобилизация в течение 40 дней по 150 мин) концентрация КА в гипоталамусе уже не отличалась (то есть не была пониженной) от таковой у крыс нестрессированного контроля; концентрация АКТГ в плазме при этом, хотя и уступала таковой при однократной иммобилизации, достоверно превышала контрольный уровень [4]. Следует отметить, что у повторно иммобилизованных крыс мы обнаружили значительно повышенную активность ТГ [4], которая свидетельствует о повышенном биосинтезе КА в гипоталамусе таким образом адаптированных животных.

Если вернуться к данным, полученным нами у летавших в Космосе крыс и показавшим отсутствие изменений концентрации КА и активности ферментов их синтеза и распада в гипоталамусе (биоспутники «Космос-782» и «Космос-936»), то можно заключить, что почти 20-суточное пребывание крыс в условиях космического полета не представляет интенсивного стрессогенного импульса, активирующего адренергическую систему в гипоталамусе.

Учитывая современные знания о множественности функций гипоталамуса, изучение метаболизма КА в целом гипоталамусе является менее ценным. С помощью метода изоляции отдельных ядер из гипоталамуса и других мозговых структур [23] было установлено распределение всех нейромедиаторов, которые можно в настоящее время определить, и почти всех гипоталамических ингибирующих и рилизинг-гормонов и других биологически активных пептидов [7, 24].

Поэтому мы исследовали концентрацию норадреналина (НА) и

дофамина (ДА) в 17 областях гипоталамуса, используя чувствительный радиоизотопный метод [2]. Проведенные исследования [25] отчетливо показали разницу в концентрации НА и ДА в 17 изолированных ядрах гипоталамуса. В последующем нами было изучено влияние однократной иммобилизации (в течение 20 мин) на концентрацию НА и ДА в 17 ядрах гипоталамуса; эти исследования [4, 25] выявили достоверное снижение содержания НА в *p. ventromedialis* и *p. supraopticus*, в остальных ядрах это понижение было недостоверным, а в *p. dorsomedialis* (вентральная часть) концентрация НА под влиянием 20-минутной иммобилизации достоверно повысилась. Концентрация ДА при этом достоверно снизилась в *p. arcuatus*, а в *p. dorsomedialis* (вентральная часть) и особенно в *p. interstitialis strla terminalis* достоверно повысилась. При изучении влияния различных интервалов однократной иммобилизации на концентрацию НА в *p. ventromedialis* нами было показано [4, 25], что на 20-й мин иммобилизации концентрация НА достоверно снизилась, а к концу иммобилизации (180-я мин) не отличалась от исходного уровня.

Полученные данные свидетельствуют о том, что однократная иммобилизация сопровождается снижением концентрации НА в большинстве гипоталамических ядер, что согласуется с изменениями, выявленными при исследовании целого гипоталамуса. Однако при этом некоторые ядра гипоталамуса проявляют все же прямо противоположную реакцию, то есть повышение концентрации НА [4, 5].

Проведенные исследования [4] показали, что повторяемый стресс (иммобилизация 40 раз, ежедневно, в течение 150 мин) приводил к повышению концентрации НА в различных ядрах гипоталамуса—отмечено повышение концентрации НА в *p. supraopticus* и в *eminentia medialis* и значительное его повышение в *p. dorsomedialis*, *p. paraventricularis*; повышение концентрации ДА выявлялось в *p. dorsomedialis* и *p. paraventricularis*. Повторяемый стресс, по нашим данным [4], сопровождался повышением активности ДБГ (КА-синтезирующего фермента) в *p. dorsomedialis* и других ядрах. Показано также [26], что повторяемая иммобилизация приводит в большинстве из изученных ядер гипоталамуса к понижению активности МАО.

Таким образом, у повторно стрессированных животных в большинстве ядер гипоталамуса отмечали увеличение концентрации КА, обусловленное их повышенным синтезом и пониженным распадом. Следует отметить, что в целом гипоталамусе концентрация КА у повторно стрессированных животных не отличалась от таковой у интактных.

Хотя концентрация адреналина (А) в гипоталамических ядрах значительно ниже, чем содержание НА или ДА [6, 8, 27], тем не менее и количество А подвергается значительным изменениям при стрессе. По нашим данным [6], при однократной 20-минутной иммобилизации происходило понижение концентрации А в *p. hypothalamus anterior* и его повышение в *eminentia medialis*, а после однократной 240-минут-

ной иммобилизации выявляется снижение концентрации А в п. hypothalamus anterior, п. periventricularis, п. ventromedialis и в п. arcuatus.

Учитывая, что каждое ядро гипоталамуса отвечает за несколько функций, метод изоляции отдельных ядер гипоталамуса (и других структур головного мозга) был модифицирован таким образом [28], чтобы разделить одно гипоталамическое ядро на несколько областей и изучить малые функциональные единицы ткани. В частности, было измерено содержание НА, ДА, А и серотонина в 17 частях п. ventromedialis и показано изменение количества этих медиаторов при остром стрессе [28].

Полученные данные позволяют предположить следующую схему метаболизма КА в гипоталамусе повторно стрессируемых животных—повторяемый стресс повышает содержание КА в гипоталамусе вследствие усиленного их синтеза (повышение активности ТГ и ДБГ) и, вероятно, пониженной деградации (уменьшение активности МАО). Это побудило нас провести в эксперименте на биоспутнике «Космос-1129» исследование содержания КА в отдельных ядрах гипоталамуса; при этом были получены следующие результаты.

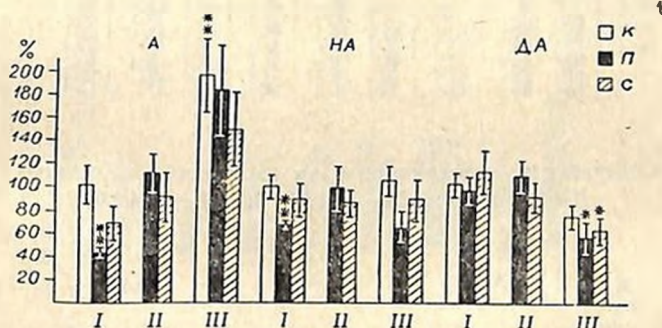


Рис. 1. Содержание катехоламинов в eminentia medialis. Здесь и на остальных рисунках (n=6-7): А—адреналин, НА—норадреналин, ДА—дофамин; К—контроль, П—полет, С—синхронный эксперимент; I—сразу после приземления, II—через 6 суток после него, III—через 6 суток после приземления у крыс, подвергнутых 5-кратной иммобилизации; на оси ординат—содержание в % от контроля. *— $p < 0,05$, **— $p < 0,01$ (достоверность по отношению к контролю I группы). Контроль (нг/мг): А— $1,38 \pm 0,22$; НА— $34,46 \pm 3,51$; ДА— $74,47 \pm 8,01$

В eminentia medialis у животных, забитых на месте приземления, отмечалось понижение концентрации А и НА; у животных виварного контроля, подвергнутых повторяемой иммобилизации, концентрация А повысилась, а у находившихся в полете и синхронных крыс концентрация ДА после повторяемого стресса снизилась (рис. 1).

В п. arcuatus происходило снижение содержания НА у летавших животных сразу после приземления и у крыс соответствующей группы синхронного контроля; концентрация А снизилась у животных I группы синхронного контроля и находившихся в полете животных, подверг-

нутых повторному стрессу (III группа); концентрация ДА была повышена только у животных III группы синхронного контроля (рис. 2).

В п. *ventromedialis* содержание А и ДА у животных всех обследованных групп не изменялось; содержание НА у животных III полетной группы и синхронного контроля к ней снизилось как по сравнению с интактным контролем, так и по сравнению с повторно иммобилизованными животными виварного контроля (рис. 3).

В п. *dorsomedialis* содержание А, НА и ДА у животных всех обследованных групп оказалось неизменным, за исключением достоверного снижения концентрации ДА у крыс II группы синхронного контроля (рис. 4).

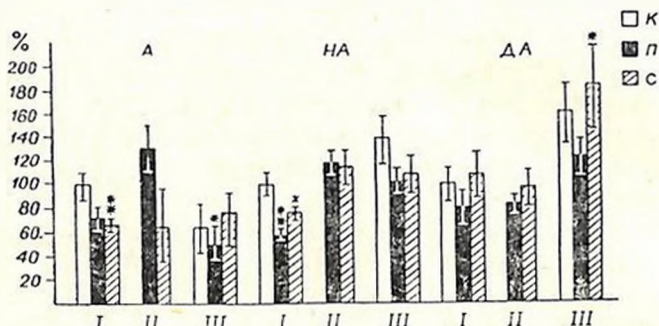


Рис. 2. Содержание катехоламинов в п. *arcuatus*. Контроль (нг/мг): А— $1,12 \pm 0,15$; НА— $37,2 \pm 3,35$; ДА— $27,4 \pm 3,51$

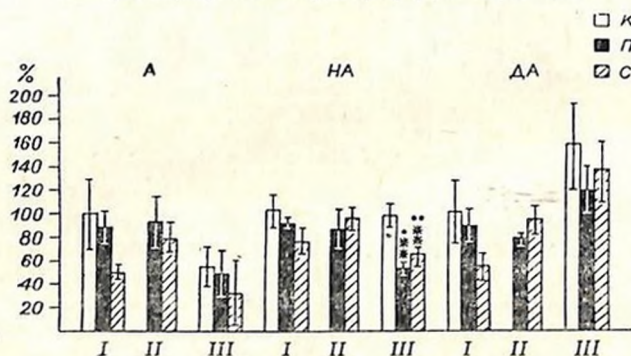


Рис. 3. Содержание катехоламинов в п. *ventromedialis*. Здесь и далее .— $p < 0,05$; ..— $p < 0,01$ (достоверность по отношению к соответствующим животным II группы). Контроль (нг/мг): А— $1,06 \pm 0,33$; НА— $22,0 \pm 2,9$; ДА— $7,0 \pm 1,8$

В п. *supraopticus* не было выявлено изменений содержания КА у животных всех исследованных групп (рис. 5).

В п. *paraventricularis* концентрация А и НА у крыс III полетной группы и синхронного контроля к ней понизилась как по сравнению с интактными животными, так и по сравнению с повторно иммобилизо-

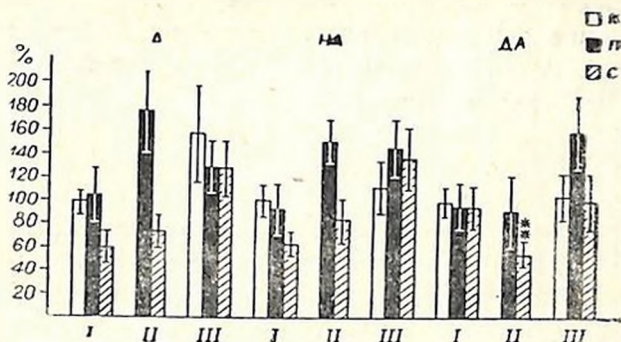


Рис. 4. Содержание катехоламинов в п. dorsomedialis. Контроль (нг/мг): А— $0,48 \pm 0,06$; НА— $19,12 \pm 2,72$; ДА— $3,85 \pm 0,46$

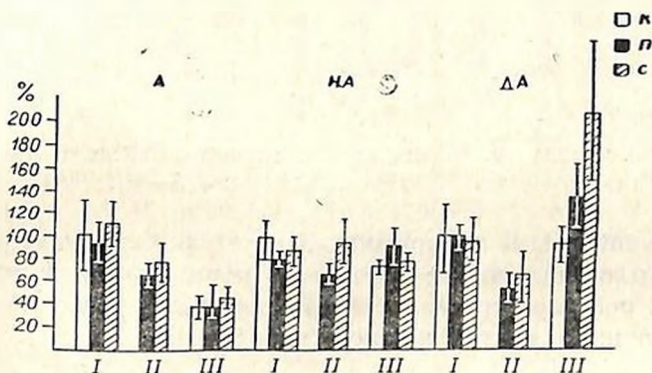


Рис. 5. Содержание катехоламинов в п. supraopticus. Контроль (нг/мг): А— $0,47 \pm 0,14$; НА— $22,4 \pm 3,70$; ДА— $2,55 \pm 0,71$

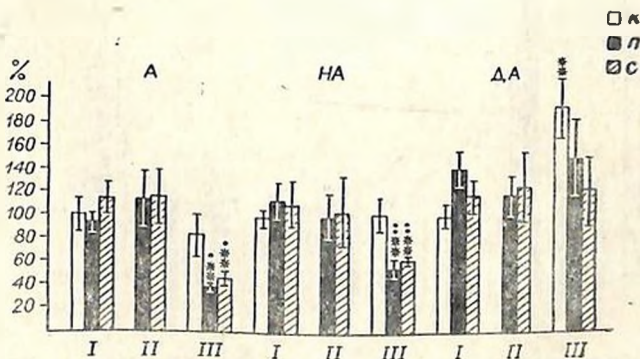


Рис. 6. Содержание катехоламинов в п. paraventricularis. Контроль (нг/мг): А— $0,65 \pm 0,11$; НА— $37,27 \pm 2,99$; ДА— $4,71 \pm 0,54$.

данными виварными животными; содержание ДА повысилось только у повторно иммобилизованных крыс виварного контроля (рис. 6).

В п. suprachiasmaticus отмечалось понижение концентрации А у

полетных животных сразу после приземления; содержание НА не изменилось, а содержание ДА повысилось по сравнению с интактным контролем у животных II полетной группы и у всех животных (полетных и контрольных) III группы (рис. 7).

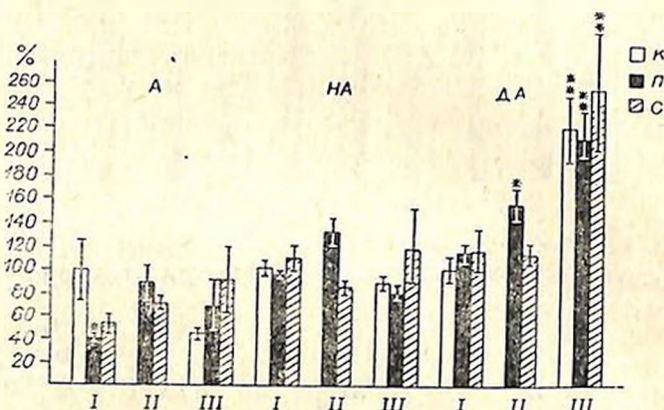


Рис. 7. Содержание катехоламинов в н. suprachiasmaticus. Контроль (нг/мг): А— $0,50 \pm 0,13$; НА— $20,53 \pm 1,33$; ДА— $3,84 \pm 0,41$

В н. periventricularis содержание А у летавших крыс сразу после приземления было сниженным; отмечалось повышение концентрации А у животных II полетной группы и повышение ДА у крыс III полетной группы и синхронного контроля к ней (рис. 8).

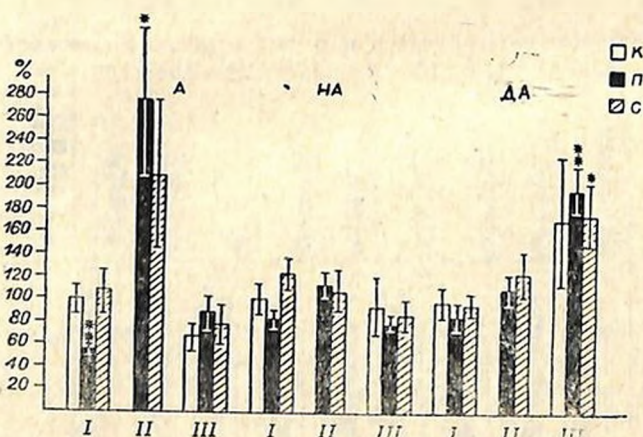


Рис. 8. Содержание катехоламинов в н. periventricularis. Контроль (нг/мг): А— $0,50 \pm 0,07$; НА— $38,19 \pm 5,34$; ДА— $7,69 \pm 1,07$

Таким образом, сразу после приземления было отмечено снижение концентрации НА в н. arcuatus и eminentia medialis, а также падение концентрации А в eminentia medialis, н. suprachiasmaticus и н. periventricularis; концентрация ДА ни в одном из 8 исследованных ядер

гипоталамуса не изменилась. В группе животных, забитой на 6-й день после приземления и не подвергавшейся воздействиям, каких-либо особых изменений в концентрации КА мы не нашли, однако, когда крысы после приземления были подвергнуты 5-кратному иммобилизационному стрессу, выявилось падение концентрации НА в *n. ventromedialis* и *n. paraventricularis*, снижение концентрации А в *n. arcuatus* и *n. paraventricularis*, концентрация ДА снизилась в *eminentia medialis* и в *n. suprachiasmaticus* и *n. periventricularis*.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что только в нескольких областях гипоталамуса было найдено изменение содержания КА после космического полета, а именно, главным образом в *n. arcuatus* и *n. periventricularis* и *eminentia medialis*, в которых нами (а также и другими авторами) были обнаружены наибольшие изменения содержания КА после острого стресса. Пониженное количество А и НА в этих ядрах гипоталамуса является убедительным доказательством того, что крысы в момент приземления находились в состоянии стресса. Был ли это острый или хронический стресс? Из результатов проведенных исследований на повторно иммобилизованных крысах следует, что у таким образом адаптированных животных происходило не падение, а наоборот, повышение содержания КА в ядрах гипоталамуса. Поэтому можно предположить, что животные в течение космического полета не были подвергнуты воздействию хронического стресса, так как в ядрах гипоталамуса произошло в основном падение концентрации КА, причиной которого, по всей вероятности, является острый стресс, возникающий лишь при приземлении биоспутника.

REGULATION OF CATECHOLAMINE METABOLISM IN RAT HYPOTHALAMUS DURING SPACE FLIGHT

TIGRANIAN R. A., KVETNANSKY R.

Institute of Biomedical Problems, USSR Ministry of Health, Moscow;
Institute of Experimental Endocrinology, Centre of Physiological Sciences,
Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Czechoslovakia

Studies of catecholamine metabolism in rat hypothalamus onboard of the biosatellites of series „Kosmos“ have indicated that in quite a few regions of hypothalamus, mainly *n. arcuatus* and *periventricularis* and *eminentia medialis*, post flight changes in the level of catecholamines had occurred. A decrease in the level of adrenaline and noradrenaline in these nuclei of hypothalamus is a convincing evidence for the view that at the moment of landing the rats suffered from stress. Most likely, a decrease in the catecholamine concentration is due to acute stress occurring during the biosatellites landing.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ungerstedt U. *Acta physiol. scand.*, 371, 1—43, 1971.
2. Palkovits M., Brownstein M., Saavedra J. M., Axelrod J. *Brain Research*, 77, 138—149, 1974.
3. Palkovits M., Kobayashi R. M., Kizer J. S., Jacobowitz D. M., Kopin I. J. *Neuroendocrinology*, 18, 144—153, 1975.

4. Kvetňanský R., Mitro A., Palkovits M., Brownstein M., Torda T., Vigaš M., Mikulaj L.—In: Catecholamines and Stress, Usdin E., Kvetňanský R., Kopin I. J. (eds.), Pergamon Press, Oxford, p. 39—50, 1976.
5. Kvetňanský R., Palkovits M., Mitro A., Torda T., Mikulaj L. Neuroendocrinology, 23, 257—267, 1977.
6. Kvetňanský R., Kopin I. J., Saavedra J. M. Brain Research, 155, 387—390, 1978.
7. Brownstein M. J., Palkovits M., Saavedra J. M., Kizer J. S.—In: Frontiers in Neuroendocrinology, Martini L., Ganong W. F. (eds.), Raven Press, N. Y., 4, 1—23, 1976.
8. Saavedra J. M.—In: Catecholamines and Stress: Recent Advances, Usdin E., Kvetňanský R., Kopin I. J. (eds.), Elsevier North-Holland, N. Y., p. 37—46, 1980.
9. Van Loon G. R.—In: Frontiers in Neuroendocrinology, Ganong W. F., Martini L. (eds.), Oxford University Press, N. Y., p. 209—247, 1973.
10. Ganong W. F.—In: Minireviews of the Neurosciences, Brodie B. B., Bressler R. (eds.), Pergamon Press, Oxford, p. 349—362, 1975.
11. Ganong W. F.—In: Catecholamines and Stress: Recent Advances, Usdin E., Kvetňanský R., Kopin I. J. (eds.), Elsevier North-Holland, N. Y., p. 115—124, 1980.
12. Wurtman R. J. Ibid, p. 383—391, 1980.
13. Газенко О. Г., Генин А. М., Ильин Е. А., Португалов В. В., Серова Л. В., Тигранян Р. А. Космическая биология и авиакосмическая медицина, 12, 6, 43—49, 1978.
14. Coyle J. T., Henry D. T. J. Neurochem. 21, 61—67, 1973.
15. Saavedra J. M., Brownstein M., Kizer J. S., Axelrod J. Ibid, 23, 869—871, 1974.
16. Wurtman R. J., Axelrod J. J. Biochem. Pharmacol., 12, 1439—1440, 1963.
17. Da Prada M., Zürcher G. Life Sci., 19, 1161—1174, 1976.
18. Peuler J. D., Johnson G. A. Ibid, 21, 625—636, 1977.
19. Кветнянски Р., Тигранян Р. А., Торда Т., Бабушикова Д., Яхнова Е., Калита Н. Ф., Вугаш М. Космическая биология и авиакосмическая медицина, 13, 3, 24—27, 1979.
20. Macho L., Kvetňanský R., Torda T., Čulman J., Tigranjan R.—In: Catecholamines and Stress: Recent Advances, Usdin E., Kvetňanský R., Kopin I. J. (eds.) Elsevier North-Holland, N. Y., p. 399—408, 1980.
21. Торда Т., Кветнянски Р., Тигракян Р. А., Чулман Ю., Генин А. М. Космическая биология и авиакосмическая медицина, 15, 6, 46—48, 1981.
22. Kvetňanský R., Weise V. K., Kopin I. J. Endocrinology, 87, 744—749, 1970.
23. Palkovits M. Brain Research, 59, 419—450, 1973.
24. Palkovits M., Mezey E., Féminger A.—In: Catecholamines and Stress: Recent Advances, Usdin E., Kvetňanský R., Kopin I. J. (eds.), Elsevier North-Holland, N. Y., p. 21—29, 1980.
25. Kvetňanský R., Mitro A., Palkovits M., Vigaš M., Albrecht J., Torda T., Mikulaj L.—In: Cellular and Molecular Bases of Neuroendocrine Processes, ed. E. Endrőczy, Publishing House of the Hungarian Academy of sciences, Budapest, p. 495—512, 1976.
26. Kvetňanský R.—In: Catecholamines and Stress: Recent Advances, Usdin E., Kvetňanský R., Kopin I. J. (eds.), Elsevier North-Holland, N. Y., p. 7—18, 1980.
27. Saavedra J. M., Kvetňanský R., Kopin I. J. Brain Research, 160, 271—280, 1979.
28. Kiss A., Čulman J., Mitro A., Kvetňanský R., Palkovits M.—In: Catecholamines and Stress: Recent Advances, Usdin E., Kvetňanský R., Kopin I. J. (eds.), Elsevier North-Holland, N. Y., p. 31—36, 1980.

Институт медико-биологических
проблем МЗ СССР, Москва
Институт экспериментальной эндокринологии
Центра физиологических исследований
Словацкой АН, ЧССР, Братислава

Поступила 15.XI 1981

УДК 612.826.4.015.348—06:612.592.1

ЯДЕРНЫЕ БЕЛКИ НЕЙРОНОВ И ГЛИОЦИТОВ В ДВИГАТЕЛЬНОЙ ЗОНЕ КОРЫ МОЗГА КРЫС ПРИ АККЛИМАЦИИ К ХОЛОДУ

КРИЧЕВСКАЯ А. А., ШУГАЛЕЙ В. С., КЛЕНИКОВА В. А.,
ЛОМАКИНА Л. В., ЛОСЕВА С. П.

Методом двухволновой цитоспектрофотометрии определяли содержание основных и кислых белков в ядрах нейронов и глиальных клеток-сателлитов V слоя двигательной зоны коры мозга крыс на 1, 3, 7, 15, 30 и 45 суток акклимации животных к холоду (температура 2—4°). Охлаждение приводило к снижению количества ядерных основных белков в нейронах на 1, 3, 15 суток, в глиоцитах—на 1, 3, 30 и 45 суток холодового воздействия. У адаптированных к холоду животных (30 и 45 суток) уровень ядерных основных белков в нейронах возвращался к контролю, а в глиальных клетках продолжал оставаться пониженным. В ранние сроки действия холода (1—3 суток) и у адаптированных животных (30 и 45 суток) содержание кислых белков в ядрах нейронов оставалось на уровне контроля, а на 7 и 15 суток пребывания животных при низкой температуре уровень ядерных кислых белков был ниже контрольного. Количество кислых белков в перинейрональных глиоцитах оставалось без изменений в течение всего процесса акклимации крыс к холоду. Наиболее лабильной фракцией ядерных белков в двигательной зоне коры мозга крыс в условиях холодовой акклимации оказалась фракция основных белков.

Хроническое действие умеренно низкой температуры среды на организм теплокровных животных приводит к холодовой акклимации. Этот процесс на молекулярном уровне включает сложную перестройку метаболизма, в которой активно участвует ЦНС. При действии низкой температуры (2—4°) уже в первые дни у крыс в гипоталамической области обнаруживаются существенные изменения в содержании ядерных белков в нейронах и глиоцитах. Эти изменения носят специфический характер в клетках функционально различных структур гипоталамуса—супраоптического ядра и медиальной преоптической области [1, 2]. Очевидно, это связано с той ролью, которую играет гипоталамус в процессе терморегуляции [3].

Однако, если фенотипические адаптации, каковой является и холодовая акклимация, непосредственно связаны с формированием долговременной памяти [4], то в процесс адаптивной перестройки вовлекаются другие отделы и структуры ЦНС. При холодовой акклимации важная роль принадлежит двигательной зоне коры головного мозга, поскольку двигательная активность животных непосредственно связана с процессом терморегуляции [5].

В работе определяли содержание основных и кислых белков в ядрах нейронов и глиальных клеток в двигательной зоне коры мозга крыс в процессе их акклимации к холоду.

Материалы и методы

Опыты проводили на половозрелых крысах-самцах массой 150—180 г, которых в течение 45 суток содержали в холодовой камере при температуре 2—4°. Животные получали стандартный полноценный рацион питания. Ректальная температура крыс в течение всего эксперимента оставалась неизменной. В первые дни пребывания на холоду животные были мало подвижны, теряли в массе. Через две недели их поведение постепенно нормализовалось, они начинали набирать массу. Контролем служили животные того же пола, возраста и массы, содержавшиеся в условиях вивария при температуре 20—22°.

Через 1, 3, 7, 15, 30 и 45 суток после помещения крыс в холодовую камеру подопытных и одновременно контрольных животных забивали быстрым обезглавливанием без наркоза, иссекали двигательную зону коры больших полушарий, фиксировали в охлажденной смеси Карнуа, обезживляли и заливали в парафин по общепринятой схеме [6]. В срезах толщиной 5—8 мкм исследовали клетки V слоя двигательной зоны коры. Основные (катионные) белки выявляли альциановым синим после предварительной инкубации с гепарином [7], а кислые (анионные) белки—прочным зеленым при pH 2,6 [8, 9]. Количество белка в расчете на одно ядро нейрона или глиоцита в V слое двигательной коры определяли двухволновым методом видимой цитофотометрии на цифровом микроцитометре МЦФУ-1 [10]. Среднюю величину содержания белка рассчитывали по данным фотометрии (150—160 клеток от 5 животных). Результаты выражали в единицах оптической плотности на одно ядро клетки, умноженных на 100.

Результаты и обсуждение

В нейронах V слоя двигательной зоны коры содержится $99,5 \pm 2,2$ ед. кислых белков. В глиальных клетках белков, окрашивающихся этим же красителем, $-75,7 \pm 2,3$ ед. Содержание кислых белков в нейронах снижалось на 15—18% соответственно на 7 и 15 сутки пребывания животных при низкой температуре. В ранние сроки действия холода (1—3 суток) и у адаптированных к холоду животных (30 и 45 суток) содержание кислых белков в нейронах оставалось на уровне контроля. Содержание кислых белков в перинейрональных глиоцитах V слоя двигательной зоны коры больших полушарий не изменялось во все сроки акклимации (таблица, рис. 1).

Большие изменения были обнаружены во фракции основных белков (таблица). В нейронах двигательной коры на 1, 3 и 15 сутки количество основных белков было сниженным на 25, 18 и 27% и возвращалось к контролю на 30 и 45 суток акклимации (рис. 2).

В клетках перинейрональной глии содержание основных белков в начальные сроки холодового воздействия (1 и 3 сутки) также было сниженным на 20,6 и 19,6%, на 7 и 15 сутки уровень этих белков в глиоцитах несколько возрастал, но по-прежнему оставался ниже контроля на 9,5 и 11% соответственно. На 30 и 45 сутки акклимации количество основных белков было на 17 и 19,6% ниже, чем у контрольных животных (рис. 2).

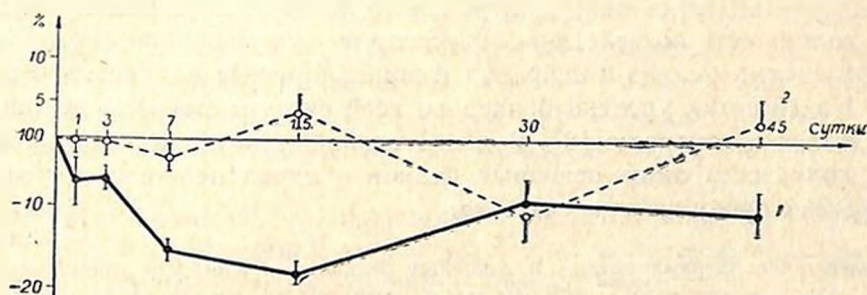


Рис. 1. Изменение содержания кислых белков в ядрах нейронов (1) и перинейрональной глии (2) V слоя двигательной зоны коры больших полушарий мозга крыс в ходе акклимации к холоду. Здесь и на рис. 2: по оси абсцисс—сроки акклимации животных в сутках; по оси ординат—изменение содержания белка в процентах к контролю.

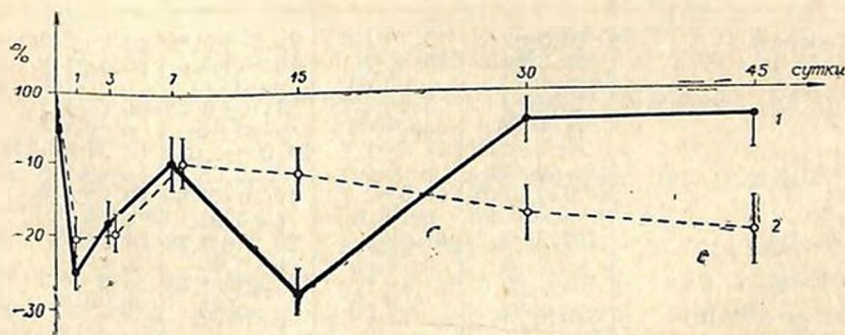


Рис. 2. Изменение содержания ядерных основных белков в нейронах (1) и глиоцитах (2) V слоя двигательной коры мозга крыс при акклимации к холоду

Из полученных результатов видно, что наиболее лабильной фракцией ядерных белков в условиях холодовой акклимации в двигательной зоне коры больших полушарий крыс были основные белки.

Сопоставление динамики исследованных ядерных белков показало, что наиболее существенным отличием белков гипоталамической и двигательной зон были более глубокие изменения в гипоталамусе, затрагивавшие кислые и основные белки ядер нейронов и глиальных клеток. Так, например, уровень основных белков в нейронах в супраоптическом ядре (СОЯ) и медиальной преоптической области (МПО) гипоталамуса на 1 сутки повышается, а на 3—снижается. В глиоцитах

СОЯ изменения количества этих белков зеркально противоположны изменениям в нейронах. В глиоцитах МПО снижение количества белка происходило лишь на 3 сутки пребывания крыс на холоду. На 15 сутки акклимации уровень белков во всей системе нейрон—нейроглия обеих гипоталамических структур возвращался к контролю [1]. Содержание ядерных кислых белков в нейронах и глиоцитах СОЯ превышало уровень контроля в первую неделю действия холода на крыс, на 15 сутки—становилось ниже контрольного значения. В МПО на 1—3 сутки холодого воздействия наблюдали уменьшение количества ядерных кислых белков в нейронах и волнообразные изменения в глиоцитах. На 15 сутки уровень белков во всей системе нейрон—нейроглия возвращался к контролю [2]. В двигательной зоне происходило уменьшение количества лишь основных белков в ядрах нейронов и глиоцитах в ранние сроки действия холода.

Таблица

Содержание ядерных кислых и основных белков в нейронах и глиоцитах V слоя двигательной зоны коры мозга крыс при акклимации к холоду (единицы оптической плотности $\times 100$). ($M \pm m$)

Продолжительность акклимации (в сутках)	Кислые белки		Основные белки	
	нейрон	глиоцит	нейрон	глиоцит
Контроль	99,5 $\pm$ 2,2	75,7 $\pm$ 2,3	26,30 $\pm$ 0,88	69,9 $\pm$ 2,9
1	93,3 $\pm$ 2,3 $p > 0,05$	75,8 $\pm$ 2,1 $p > 0,05$	18,80 $\pm$ 0,68 $p < 0,001$	55,5 $\pm$ 1,9 $p < 0,001$
3	94,8 $\pm$ 2,5 $p > 0,05$	75,4 $\pm$ 2,7 $p > 0,05$	21,50 $\pm$ 0,98 $p < 0,001$	56,2 $\pm$ 1,1 $p < 0,001$
7	84,2 $\pm$ 2,3 $p < 0,001$	77,5 $\pm$ 1,7 $p > 0,05$	24,00 $\pm$ 1,63 $p > 0,05$	63,20 $\pm$ 2,98 $p > 0,05$
15	81,5 $\pm$ 1,8 $p < 0,001$	78,3 $\pm$ 2,7 $p > 0,05$	19,10 $\pm$ 0,89 $p < 0,001$	62,1 $\pm$ 3,6 $p > 0,05$
30	107,9 $\pm$ 2,2 $p > 0,05$	68,7 $\pm$ 1,4 $p > 0,05$	25,20 $\pm$ 0,79 $p > 0,05$	57,9 $\pm$ 2,9 $p < 0,01$
45	108,8 $\pm$ 2,0 $p > 0,05$	78,5 $\pm$ 1,7 $p > 0,05$	25,40 $\pm$ 0,85 $p > 0,05$	56,2 $\pm$ 4,2 $p < 0,01$

Насколько полученные данные согласуются с направленностью и сбалансированностью основных, характерных для ЦНС, процессов возбуждения и торможения? Существует представление, что перевозбуждение или неадекватное возбуждение сопровождаются на клеточном уровне снижением содержания основных макромолекул—РНК и белков [11]. Действительно, стрессорное действие холода вызывало в двигательной зоне снижение количества основных ядерных белков. На 15 сутки, когда была наиболее выражена фазовость акклимации и шла перестройка метаболизма от стрессорного характера функционирования к адаптивному, при выраженной индивидуальной чувствительности животных к холоду мы наблюдали наибольшие изменения в содержании ядерных белков в нейронах двигательной зоны. Можно полагать, что одним из механизмов, посредством которого мог снижаться уровень белков, была активация протеолитических процессов, имев-

шая место в нервных клетках при действии холода [12, 13] и других экстремальных воздействиях [14, 15].

Известно, что холодовая адаптация не происходит по типу полной компенсации метаболизма [16]. Было установлено, что у животных, адаптированных к холоду, в тканях оказывалось повышенным содержание мочевины, наблюдалась значительная активация аргиназы в печени и снижение ее активности в ткани мозга [17]. У них отмечены глубокие изменения липидного и энергетического обменов, процессов нейроэндокринной регуляции [18]. Отсутствие нормализации уровня основных ядерных белков в глимальных клетках двигательной зоны коры мозга адаптированных к холоду крыс подтверждает вывод, что полной компенсации метаболизма при холодовой адаптации не происходит.

Нам представляется, что изменения количества ядерных основных белков в нейронах и клетках нейроглии в ходе холодовой акклимации является косвенным подтверждением генорегуляторного характера развития адаптации в структурах ЦНС.

NUCLEAR PROTEINS OF NEURONS AND GLIOCYTES FROM RAT BRAIN CORTEX MOTOR ZONE IN THE COURSE OF COLD ACCLIMATION

KRICHEVSKAYA A. A., SHUGALEY V. S., KLENIKOVA V. A.,
LOMAKINA L. V., LOSEVA S. P.

State University, Rostov-on-Don, Pavlov's Institute of Physiology, USSR
Academy of Sciences, Leningrad

The content of nuclear acid and basic proteins has been determined in neurons and glial satellite cells from the 5th layer of brain cortex motor zone by means of a double-wave visible cytospectrophotometric method in rats exposed to cold (2—4°) for 1, 3, 7, 15, 30 and 45 days. A decrease in both neuronal and glial basic proteins content has been detected in the first 1—15 days and was followed by a reincrease in the neuronal basic protein amounts up to the initial value in adapted animals (30 and 45 days). The neuronal acid proteins content has not altered at the beginning of treatment (1—3 days) and in adapted animals (30 and 45 days) but was diminished from 7th to 15th days of acclimation to cold. However, the glial acid proteins content has not changed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Кричевская А. А., Могильницкая Л. В., Певзнер Л. З. ДАН СССР, 228, 982—984, 1976.
2. Могильницкая Л. В., Певзнер Л. З. Бюл. экспер. биол. и мед., 86, 8, 187—190, 1978.
3. Wang L. C. H., Hanson I. W. (ed.) Strategies in cold. Natural Torpidity and thermogenesis. A. P., 1978.
4. Хлебович В. В. Акклимация животных организмов, Л., Наука, с. 76—80, 1981.

5. *Smellie R. M. S., Pennock I. F. (ed.) Biochemical Adaptation to Environmental change (Biochem. Soc. Symp.), London, Biochemical Society, 9, 240, 1976.*
6. *Ромейс Б. Микроскопическая техника, М., ИЛ, 1954.*
7. *Labelle J.-L., Normad B. Acta histochemistry, 41, 338—348, 1971.*
8. *Deich A. D., Terner G. V. J. of Histochemistry and cytochemistry, 13, 15—16, 1965.*
9. *Brumberg V. A., Pevzner L. Z. Microscopica acta, 80, 323—330, 1978.*
10. *Зарубина И. Л., Давыдова М. Н., Кулаков А. А., Куранов А. И., Макаров Ю. К., Мамаева А. И., Маслова Г. И., Попов В. А., Певзнер Л. З. Цитология, 12, 1439—1443, 1975.*
11. *Певзнер Л. З. Функциональная биохимия нейроглии, Л., Наука, с. 152—153, 1972.*
12. *Могильницкая Л. В., Шугалей В. С. Физиол. ж. СССР, 64, 7, 1035—1038, 1978.*
13. *Ломакина Л. В., Шугалей В. С. Физиол. ж. СССР, 66, 400—405, 1980.*
14. *Лукаш А. И., Чихачев А. С., Карташова Л. Д. Укр. биохим. ж., 47, 728—733, 1975.*
15. *Покровский А. А., Тутельян В. А. Лизосомы, М., Наука, с. 183—184, 1976.*
16. *Казначеев В. П. Современные аспекты адаптации, Новосибирск, Наука, с. 10—82, 1980.*
17. *Шугалей В. С., Козина Л. С. Физиол. ж. СССР, 63, 1199—1202, 1977.*
18. *Механизмы адаптации человека в условиях высоких широт (под ред. В. П. Казначеева), Л., Медицина, с. 199, 1980.*

Кафедра биохимии и НИИ биологии РГУ,
Институт физиологии им. И. П. Павлова
АН СССР, Ленинград

Поступила 26.11 1982

УДК 612.822.1

ВЛИЯНИЕ ОБУЧЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ КИСЛОЙ И ЩЕЛОЧНОЙ РИБОНУКЛЕАЗ И ИНГИБИТОРА ПОСЛЕДНЕЙ В СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

НЕЧАЕВА Г. А., ЛОПАТИНА Н. Г.

Выработка условного оборонительного рефлекса у крыс путем последовательного или массированного обучения вызывала увеличение (по сравнению с псевдообученными животными) активности кислой РНКазы в синаптической фракции больших полушарий головного мозга. У обученных животных в растворимой клеточной фракции увеличивалось также содержание неактивных комплексов щелочной РНКазы с ее специфическим белковым ингибитором. Массированное обучение и псевдообучение приводили к уменьшению активности свободного ингибитора в цитозоле.

Участие белков и метаболически тесно связанных с ними рибонуклеиновых кислот в специфической деятельности головного мозга привлекает внимание к изучению ферментов, участвующих в метаболизме РНК, в частности рибонуклеаз. В ткани мозга имеются две отличающиеся по оптимуму активности РНКазы—кислая и щелочная. Предыдущие исследования [1—4] показали, что при выработке условного оборонительного рефлекса у крыс активность этих фракций РНКаз и ингибитора щелочной РНКазы в коре больших полушарий головного мозга изменяется.

В связи с этим возникла необходимость выяснить, обусловлены ли эти сдвиги активности РНКаз эффектом обучения или они возникают под влиянием неспецифической стимуляции, сопровождающей выработку условного оборонительного рефлекса.

С этой целью в настоящей работе исследовали активность кислой РНКазы лизосомной и синаптической фракций и щелочной РНКазы и ее специфического эндогенного белкового ингибитора в растворимой клеточной фракции больших полушарий головного мозга у крыс, которых подвергали выработке условного оборонительного рефлекса, а для контроля также у псевдообученных животных и у животных в состоянии относительного покоя. При этом сопоставлены результаты 1- и 5-дневной схем тренировки.

Материалы и методы

Исследование было проведено на крысах-самцах линии Вистар массой 180—200 г. У части крыс выработку условного оборонительного

рефлекса осуществляли в течение 5 дней во время 5 сеансов с промежутком в 24 ч; в каждом сеансе с интервалом в 30 с применяли по 20 сочетаний условного раздражителя (свет) с безусловным (электрический ток силой 1,5 А). Другую группу животных обучали в течение 1 дня. При таком «массированном» обучении животные получали все 100 сочетаний за один сеанс (общая продолжительность—1 ч) с теми же интервалами между раздражителями, что и при 5-дневном обучении. В каждом случае исследовали 3 группы крыс: подопытную—животных, подвергнутых выработке условного оборонительного рефлекса; группу так называемого активного контроля—псевдообученных животных, которым предъявляли несочетанные раздражители по 1-или 5-дневной схеме тренировки, и интактных животных—так называемый пассивный контроль. Через 30 мин после окончания опыта крыс быстро декапитировали в холодной камере и извлекали головной мозг. Одновременно с подопытными забивали двух контрольных животных—интактное и псевдообученное. Из больших полушарий головного мозга готовили гомогенаты (1:10) и получали из них обогащенные лизосомами фракции (ОЛФ) [3]. Из осадка ОЛФ центрифугированием в градиенте плотности сахарозы выделяли [3, 5] синаптосомную (СФ) и очищенную лизосомную фракции (ЛФ), которые использовали для определения активности кислой РНКазы. Суммарную активность кислой РНКазы определяли после добавления детергента—тритона X-100 (0,1%), освобождающего все количество РНКазы.

Надосадочную фракцию, полученную после отделения осадка ОЛФ, подвергали дополнительному центрифугированию в течение 1 ч при 12 000 g, либо 100 000 g; после этого ее использовали для определения щелочной РНКазы и специфического белкового ингибитора этого фермента, как описано ранее [6]. Щелочная РНКазы в растворимой клеточной фракции головного мозга находится почти полностью в неактивном состоянии, будучи связанной со специфическим белковым ингибитором. Суммарную активность этого фермента определяют после воздействия 1×10^{-4} М раствора п-хлормеркурибензоата п-ХМБ); последний инактивирует ингибитор и переводит латентную щелочную РНКазу в активное состояние.

В растворимой фракции значительная часть белкового ингибитора находится в свободном, не связанном с РНКазой состоянии. Свободный ингибитор способен тормозить активность добавляемой извне РНКазы [6], его активность определяли по торможению активности добавляемой к надосадочной фракции (0,2 мл) РНКазы из поджелудочной железы быка (0,04 мкг) в 0,1%-ном растворе желатина, который предварительно подвергали анализу [7]. При определении активности РНКазы в пробах с добавлением ингибитора и без него их инкубировали 15 мин. Активность ингибитора выражали в процентах торможения активности добавленной РНКазы.

Результаты исследований

При выработке условного оборонительного рефлекса как в течение 5 дней (5-дневная схема тренировки), так и за 1 день (массированное обучение) животные получали одинаковое число (100) сочетаний условного раздражителя с безусловным. Число условных рефлексов за весь период обучения при 5-дневной тренировке достигало 35—40% от числа примененных сигналов; при массированном обучении эта цифра не превышала 10%.

Таблица 1

Влияние 1- и 5-дневного обучения на суммарную активность кислой РНКазы (ΔE_{260} /мг белка) лизосомной и синапсомной фракций

Состояние животных	Один экспериментальный сеанс (100 сочетаний)		Пять экспериментальных сеансов (100 сочетаний)	
	ЛФ	СФ	ЛФ	СФ
Пассивный контроль	17,50±0,57	5,00±0,25	17,80±0,20	5,20±0,14
Активный контроль	18,90±0,78	5,06±0,17	21,90±0,42***	5,00±0,33
Обучение	18,90±0,57	6,45±0,08**	22,70±0,57	7,90±0,12***

Примечание. Для табл. 1, 2: *— $p < 0,05$; **— $p < 0,01$; ***— $p < 0,001$; количество животных $n=8$

Таблица 2

Влияние 1- и 5-дневного обучения на активность свободного белкового ингибитора щелочной РНКазы (%) и на суммарную активность щелочной РНКазы (ΔE_{260} /мг белка) (определение с 10^{-4} М п-ХМБ) и активность ее свободной фракции в цитозоле больших полушарий головного мозга крыс

Состояние животных	Один экспериментальный сеанс (100 сочетаний)			Пять экспериментальных сеансов (100 сочетаний)		
	Ингибитор	РНКазы рН 7,8		Ингибитор	РНКазы рН 7,8	
		свободная	суммарная		свободная	суммарная
Пассивн. контроль	52,70±0,82	0,07±0,01	1,23±0,11	54,1±1,0	0,06±0,02	1,34±0,06
Активн. контроль	46,30±1,85*	0,06±0,02	1,35±0,05	40,6±0,9**	0,07±0,01	1,51±0,07
Обучен.	38,00±0,75**	0,07±0,01	1,66±0,06**	42,5±1,2	0,07±0,01	2,07±0,34*

В табл. 1 представлены результаты определения активности кислой РНКазы, а в табл. 2 — активности щелочной РНКазы и ее белкового ингибитора у обученных, псевдообученных и контрольных (пассивный контроль) животных при использовании 1- и 5-дневной схем тренировки. Достоверность обнаруженных изменений устанавливали при сопоставлении рядов: выработка условного рефлекса—псевдообучение (активный контроль); активный контроль—пассивный контроль.

Полученные данные показывают, что суммарная активность кислой РНКазы у контрольных животных в ЛФ составляла в среднем

$17,50 \pm 0,57 \Delta E_{260}$ /мг белка, а в СФ— $5,20 \pm 0,14$, что согласуется с материалами предыдущих исследований [3]. После массированного обучения и псевдообучения (табл. 1) достоверных изменений активности кислой РНКазы в ЛФ обнаружено не было. При 5-дневной схеме тренировки в ЛФ у псевдообученных животных и крыс, подвергнутых выработке условного оборонительного рефлекса, активность лизосомной кислой РНКазы увеличивалась одинаково и была на 20% больше, чем у контрольных (пассивный контроль).

В СФ суммарная активность кислой РНКазы была увеличенной только у обученных животных как после массированного 1-дневного обучения, так и после 5-дневного (на 25 и 50% соответственно). У псевдообученных животных изменений активности кислой РНКазы в СФ обнаружено не было.

Одновременно с исследованием кислой РНКазы у тех же животных были проведены определения активности щелочной РНКазы и свободного белкового ингибитора в растворимой клеточной фракции. После массированного обучения у обученных животных в растворимой фракции больших полушарий головного мозга крыс уменьшалась активность свободного ингибитора и увеличивалась доля щелочной РНКазы, связанной с ингибитором (табл. 2). Еще более значительное увеличение содержания неактивных комплексов щелочной РНКазы с ингибитором наблюдали у животных, подвергнутых 5-дневному обучению. Однако в последнем случае у обученных животных по сравнению с псевдообученными изменений активности свободного ингибитора не было обнаружено. Псевдообучение (1- и 5-дневное) вызывало достоверное уменьшение активности свободного ингибитора в растворимой фракции.

Как видно из табл. 2, активность свободной, не связанной с ингибитором фракции щелочной РНКазы в цитозоле больших полушарий головного мозга была незначительна у всех обследованных групп животных и составляла всего 4—5% от величины суммарной активности щелочной РНКазы.

Обсуждение результатов

Кислая и щелочная РНКазы в клетках головного мозга находятся главным образом в латентном неактивном состоянии. Кислая РНКаза локализована в основном в лизосомах, а также в СФ и микросомной фракциях. Щелочная РНКаза находится в цитозоле в виде неактивных комплексов со специфическим белковым ингибитором. Внутриклеточная регуляция активности латентных РНКаз может осуществляться, прежде всего, путем перехода их из связанного (неактивного) состояния в свободное и обратно. Результаты проведенных опытов подтвердили полученные ранее данные о том, что после выработки условного оборонительного рефлекса активность кислой РНКазы, определяемой с тритоном X-100 в гомогенате, ЛФ и СФ больших полушарий головного мозга, увеличивается [1—4]. Исследование различных фракций

РНКаЗ у обученных, псевдообученных и интактных животных с использованием двух схем тренировки позволило выяснить некоторые особенности и внутриклеточную локализацию изменений активности кислой и щелочной РНКаЗ при обучении. Активный контроль (псевдообучение) позволяет разграничить те изменения, которые обусловлены воздействием стрессорных, сенсорных и двигательных влияний, сопровождающих выработку условного оборонительного рефлекса, от изменений, возникающих вследствие обучения. Выработка условного оборонительного рефлекса и псевдообучение вызывали изменения активности кислой и щелочной РНКаЗ, неодинаковые в различных субцеллюлярных фракциях. Полученные результаты показали, что 5-дневное и массированное обучение по сравнению с псевдообучением приводили к увеличению активности кислой РНКаЗы в СФ и повышению содержания неактивных комплексов щелочной РНКаЗы со специфическим белковым ингибитором в цитозоле. Причем 5-дневное обучение, при котором общее число вызовов условного рефлекса было в 3—4 раза больше, чем при массированном, сопровождалось большими сдвигами, чем массированное обучение. Можно предположить, что существует специфическая взаимосвязь увеличения активности кислой РНКаЗы в СФ и щелочной РНКаЗы в растворимой клеточной фракции с процессами долговременной памяти. Показано, что процессы консолидации памяти сопровождаются увеличением синтеза РНК [8, 9] и изменением их нуклеотидного состава [10], увеличением синтеза белков [11] и активности щелочной РНКаЗы [8] гомогената в различных областях головного мозга. Следует подчеркнуть, что, как показали предыдущие данные [3], выработка условного оборонительного рефлекса не сказывается на активности кислой РНКаЗы микросомной фракции. В ЛФ увеличение активности кислой РНКаЗы было одинаковым у обученных и псевдообученных животных и возникало, вероятно, лишь под влиянием стрессорной реакции, развивавшейся при стимуляции животных электрическим током.

Роль лизосом в метаболизме и функциональной деятельности головного мозга изучена еще очень мало. Поэтому обнаруженные изменения активности кислой РНКаЗы лизосом, возникавшие при функциональной нагрузке, привлекают внимание и требуют дальнейшего изучения.

Сравнительное определение активности свободной и связанной с ингибитором фракций щелочной РНКаЗы показало, что более 94% щелочной РНКаЗы надосадочной фракции больших полушарий головного мозга находится в неактивном, латентном состоянии, и ее активность обнаруживается только после инактивации ингибитора. Расчет показывает, что в цитозоле активность свободного ингибитора превышает активность связанного приблизительно в 6—8 раз. У псевдообученных животных и у животных после массированного обучения активность свободного ингибитора уменьшалась, однако содержание свободной РНКаЗы в цитозоле не увеличивалось.

Ингибитор—кислый белый белок с M около 50 000—распространен почти во всех тканях млекопитающих [12—14]. В опытах *in vitro* показано [14], что ингибитор оказывает защитное действие на мРНК, предотвращая расщепление ее РНКазой. По-видимому, лабильная система ингибитор—щелочная РНКазы может быть регулятором процессов расщепления цитоплазматической РНК также и в клетках нервной ткани.

EFFECTS OF LEARNING AND PSEUDOLEARNING ON THE ACTIVITY OF ACID AND ALKALINE RIBONUCLEASE AND ON THE ALKALINE RIBONUCLEASE INHIBITOR IN RAT BRAIN HEMISPHERES SUBCELLULAR FRACTIONS

NECHAEVA G. A., LOPATINA N. G.

Institute of Physiology, USSR Academy of Sciences, Leningrad

A conditioned defensive reflex in rats has been formed by pairing of a conditioned stimulus (light) with unconditioned one (electric current 1.5 A) either for 5 days running (20 pairings per day) or for 100 pairings per day (massive learning). In both cases it led to an increase in the acid RNase activity in the synaptosomal fraction. At the same time it resulted in the elevated alkaline RNase-protein inhibitor inactive complex in the soluble fraction. The inhibiting capacity of this protein inhibitor diminished both on massive learning and pseudolearning. The activity of acid RNase in the lysosomal fraction increased for 20% after 5 days' learning and pseudolearning.

ЛИТЕРАТУРА

1. Демин Н. Н., Нечаева Г. А., Федоров В. К. ДАН СССР, 197, 977—979, 1971.
2. Федоров В. К., Нечаева Г. А., Демин Н. Н. Физиол. ж. СССР, 58, 322—328, 1972.
3. Нечаева Г. А., Лопатина Н. Г., Гладкая А. Ф. Физиол. ж. СССР, 40, 967—969, 1979.
4. Нечаева Г. А., Лопатина Н. Г. Тез. докл. IV Всесоюзн. конференции, Пушкино, с. 30—31, 1979.
5. Whittaker V. P.—In.: Handbook of Neurochemistry, N. Y., 3, 327—362, 1969.
6. Нечаева Г. А. Укр. биохим. ж., 44, 178—181, 1972.
7. Imrie R. C., Hutchison W. C. Biochim. Biophys. Acta, 108, 106—113, 1965.
8. Gattoni R. C., Izquierdo I. Behav. Biol., 12, 67—80, 1974.
9. Glasman E. Annu. Rev. Biochem., 38, 605—646, 1969.
10. Hyden H., Egyhazi E., John E. R., Bartlett F. J. Neurochem., 16, 813—821, 1969.
11. Глущенко Т. С. Физиол. ж. СССР, 30, 35—39, 1979.
12. Roth J. S. Biochim. Biophys. Acta, 21, 34—43, 1956.
13. Kraft N., Shortman K. Austral. J. Biol. Sci., 23, 175—184, 1970.
14. Takahashi Y., Mase K., Sugano H. Biochim. Biophys. Acta, 119, 627—629, 1966.

Институт физиологии им. И. П. Павлова
АН СССР, Ленинград

Поступила 12.X 1981

УДК 577.591.481.1.543.865

СУБКЛЕТОЧНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АМИДНЫХ ГРУПП БЕЛКОВ МОЗГА ПРИ СТАРЕНИИ

АПРИКЯН Г. В., МКРТЧЯН Г. А., ПАРОНЯН Ж. А.

Изучено распределение амидных групп белков и их фракций в надосаочной, очищенной митохондриальной, синаптической, миелиновой фракциях головного мозга, а также надосаочной и митохондриальной фракциях печени белых крыс при старении. Установлено, что содержание трудногидролизуемых фракций белков не подвергается изменению. Легкогидролизуемые амидные группы как в очищенной митохондриальной и миелиновой фракциях мозга, так и в надосаочной и митохондриальной фракциях печени значительно уменьшаются у старых животных. Легкогидролизуемые фракции амидных групп надосаочной и синаптической фракций мозга не подвергаются выраженным возрастным сдвигам.

Обмен белков в мозгу и других органах претерпевает значительные сдвиги при старении организма. Наиболее существенными моментами следует считать изменение синтеза и деградации белков, их атакуемости со стороны тканевых протеолитических ферментов, появление поперечных сшивок между белковыми молекулами и другие изменения, способствующие образованию долгоживущих белковых комплексов [1]. Существенным сдвигам подвергаются и функциональные группы белков, в том числе амидные группы. Амидные группы белков мозга реагируют на различные функциональные состояния ЦНС [2—5]. Они играют определенную роль в образовании и устранении аммиака, содержание которого в старости значительно увеличивается [6—8]. Исследованиями последних лет показано, что возрастное увеличение содержания преформированного аммиака в мозгу не обусловлено процессами его образования. Аммиакообразование из аминокислот, обусловленное в основном глутаматдегидрогеназной реакцией [9, 10] и пурину-нуклеотидным циклом [11, 12], в мозговой ткани выражено снижается [13]. Имеющиеся литературные [6] и полученные нами [10, 13, 14] данные свидетельствуют о том, что увеличение содержания аммиака в мозгу и других органах происходит вследствие ослабления процессов его устраниения.

Количество амидных групп белков мозга и печени в старости заметно уменьшается. Сдвиги в содержании амидных групп имеют место как в белках целого мозга [15], так и его митохондриальной фракции [16]. С возрастом количество амидных групп белков снижается в во-

лорастворимых и водонерастворимых белках [17, 18]. Имеются данные, указывающие на важную роль дезамидирования белков при старении [18]. Нами были предприняты исследования для выяснения состояния амидированности белков в очищенной митохондриальной, синаптической и миелиновой фракциях головного мозга белых крыс в старческом возрасте. В литературе отсутствовали сведения по этому вопросу. Параллельно проводились исследования на надосадочных фракциях головного мозга и печени, а также митохондриальной фракции печени старых животных.

Материалы и методы

Опыты проводились на белых крысах двух возрастных групп: молодых (4—6-месячных) и старых (24-месячных).

Животных обезглавливали, извлекали большие полушария мозга и печень, помещали в 0,154 М раствор KCl. Мозг освобождали от кровеносных сосудов и оболочек и готовили 10% гомогенат на 0,32 М растворе сахарозы, содержащей 1 мМ ЭДТА, pH 7,4. Гомогенизацию проводили при движении пестика 12 раз со скоростью 840 об/мин.

Получение надосадочной и неочищенной митохондриальной фракций, дальнейшее разделение последней на очищенную митохондриальную, синаптическую и миелиновую фракции проводили по Whittaker с некоторыми изменениями [19—21].

Печень животного измельчали и гомогенизировали так же, как и мозг. Из гомогената (10%) печени выделяли надосадочную с микросомами и митохондриальную фракции [22].

Для определения амидных групп белки фракции мозга и печени предварительно очищали от азотсодержащих примесей небелковой природы. С этой целью препараты сначала обрабатывали трихлоруксусной кислотой, затем их последовательно промывали органическими растворителями. Полученный сухой препарат использовали для опыта [17].

Амидные группы определяли по количеству аммиака [23], выделившегося при гидролизе 5 мг белка в 2,5 мл 1 N H_2SO_4 при 100° в течение 2 ч [24]. В белках определяли количество суммарных амидных групп (САГ) и их двух фракций: легкогидролизуемых (ЛАГ) и трудногидролизуемых (ТАГ).

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что из всех исследованных фракций мозга—надосадочной, очищенной митохондриальной, синаптической и миелиновой—наименьшим содержанием суммарных амидных групп характеризуются белки надосадочной фракции—48,79 мкатом амидоазота на 100 мг белка (табл. 1, 2). В белках остальных фракций содержание САГ примерно одинаковое—55—57 мкатом амидоазо-

та на 100 мг белка, наименьшее содержание ЛАГ (19 мкатом) обнаружено в белках надосадочной фракции, затем в синаптосомной—23,19, очищенной митохондриальной—27,15 и миелиновой—29,32 мкатом. Наименьшее количество ТАГ обнаружено в белках миелиновой фракции—25,99 мкатом, в белках других фракций их содержание близко—29,79—32,18 мкатом. Исходя из имеющихся литературных данных о том, что наибольшей лабильностью обладают ЛАГ, представляет определенный интерес тот факт, что их максимальное содержание было обнаружено в очищенной митохондриальной и миелиновой фракциях.

Таблица 1

Распределение амидных групп белков (мкатом амидо N/100 мг белка) в надосадочной и очищенной митохондриальной фракциях мозга при старении

Надосадочная фракция			Очищенная митохондриальная фракция		
ЛАГ	ТАГ	САГ	ЛАГ	ТАГ	САГ
Молодые крысы					
$19,0 \pm 0,7$ (8)	$29,79 \pm 1,23$ (9)	$48,79 \pm 0,84$ (9)	$27,15 \pm 2,47$ (6)	$30,68 \pm 1,83$ (8)	$57,83 \pm 4,54$ (8)

Старые крысы

$19,09 \pm 0,96$ (8) $p^* > 0,5$	$31,42 \pm 1,55$ (9) $p > 0,4$	$50,51 \pm 2,26$ (8) $p > 0,2$	$20,86 \pm 0,81$ (9) $p < 0,05$	$30,79 \pm 1,22$ (7) $p > 0,5$	$51,65 \pm 0,62$ (7) $p > 0,2$
--	--------------------------------------	--------------------------------------	---------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------

* по сравнению с предыдущим возрастом

Таблица 2

Распределение амидных групп белков (мкатом амидо N/100 мг белка) в синаптосомной и миелиновой фракциях мозга при старении

Синаптосомная фракция			Миелиновая фракция		
ЛАГ	ТАГ	САГ	ЛАГ	ТАГ	САГ
Молодые крысы					
$23,19 \pm 2,06$ (6)	$32,18 \pm 1,63$ (8)	$55,37 \pm 5,02$ (8)	$29,32 \pm 2,07$ (7)	$25,99 \pm 0,69$ (9)	$55,31 \pm 2,70$ (9)

Старые крысы

$24,28 \pm 2,14$ (7) $p > 0,5$	$30,06 \pm 0,89$ (9) $p > 0,2$	$54,34 \pm 4,04$ (7) $p > 0,2$	$21,49 \pm 2,21$ (7) $p < 0,025$	$22,61 \pm 2,01$ (7) $p > 0,1$	$44,1 \pm 1,8$ (7) $p < 0,01$
--------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------	--	--------------------------------------	-------------------------------------

Результаты опытов показывают, что из-за неравномерных сдвигов амидных групп белков различных фракций мозга при старении наименьшим содержанием САГ характеризуется миелиновая фракция старых животных—44,1 мкатом, а в остальных фракциях количество

САГ примерно одинаковое—50,51—54,34 мкатом. Данные табл. 1, 2 дают представление о том, что уровень ТАГ с возрастом не меняется, вследствие чего их количественное распределение в различных фракциях не претерпевает выраженных изменений при старении. Примечательно, что в отличие от ТАГ количество ЛАГ подвергается значительным изменениям в старости, хотя не во всех изученных фракциях. Так, в надосадочной и синаптической фракциях существенные возрастные сдвиги в ЛАГ обнаружены не были. Представляет несомненный интерес тот факт, что содержание ЛАГ в очищенной митохондриальной и миелиновой фракциях в старости значительно снижается—соответственно на 23,2 и 26,7%. Приведенные данные свидетельствуют о том, что снижение амидных групп белков при старении, ранее установленное на уровне неочищенной митохондриальной фракции [16], происходит в очищенной митохондриальной и миелиновой фракциях, и чем выше уровень ЛАГ, тем больше он подвержен возрастным изменениям. Наши результаты о большей подверженности возрастным сдвигам ЛАГ согласуются с литературными сведениями о том, что при старении количество ЛАГ водорастворимых и водонерастворимых белков мозга снижается [17, 18]. Полученные данные свидетельствуют о том, что снижение ЛАГ характерно в основном для белков очищенной митохондриальной и миелиновой фракций, поэтому изучение амидированности индивидуальных белков мозга, имеющее непосредственное отношение к функциональной деятельности ЦНС, представляет существенный интерес.

Амидные группы белков синаптической фракции не подвергаются особым возрастным сдвигам, что созвучно с полученными ранее результатами относительно меньшей подверженности синаптическим возрастным изменениям. Это касается эффективности различных субстратов в качестве источников энергии для синапсов в старческом возрасте [25, 26].

Содержание ЛАГ белков надосадочной и митохондриальной фракций печени в старческом возрасте снижается соответственно на 30,0 и 29,6% (табл. 3). Однако имеются сведения о том, что количество суммарных амидных групп белков печени в старости не меняется [27]. Наши опыты подтвердили литературные данные, свидетельствующие об уменьшении содержания ЛАГ водорастворимых и водонерастворимых белков печени в старческом возрасте [17]. Таким образом, в отличие от субклеточных фракций мозговой ткани во всех изученных фракциях печени содержание ЛАГ претерпевает возрастные сдвиги.

Ряд исследователей показал, что белки подвергаются посттрансляционному неферментативному дезамидированию. Установлено также, что при старении уменьшение количества амидных групп белков становится причиной увеличения их атакруемости протеолитическими ферментами [17, 18]. В связи с этим можно заключить, что снижение в старческом возрасте ЛАГ в очищенной митохондриальной и миелиновой фракциях мозга и во фракциях печени приводит к усилению ата-

Таблица 3

Распределение амидных групп белков (мктом амидо N/100 мг белка) во фракциях печени при старении

Надосадоочная фракция			Митохондриальная фракция		
ЛАГ	ТАГ	САГ	ЛАГ	ТАГ	САГ
Молодые крысы					
12,61±0,29 (15)	32,52±0,59 (15)	45,13±0,28 (15)	14,26±0,36 (15)	34,68±0,44 (15)	48,94±0,40 (15)
Старые крысы					
8,81±0,18 (13) p<0,001	34,84±0,68 (12) p<0,025	43,65±0,63 (12) p<0,05	10,03±0,13 (12) p<0,001	37,79±1,27 (12) p<0,05	47,82±1,47 (12) p>0,2

куемости белков, а в синапсомной и надосадоочной фракциях белки сохраняют свою относительную стабильность к действию протеолитических ферментов. Для окончательного выяснения этого вопроса необходимы более детальные исследования на уровне индивидуальных белков субклеточных частиц мозга.

SUBCELLULAR DISTRIBUTION OF PROTEIN AMIDE NITROGEN OF BRAIN IN SENESCENCE

APRIKIAN G. V., MKRTCHIAN G. A., PARONIAN J. A.

Institute of Biochemistry, Armenian SSR Academy of Sciences, Yerevan

The distribution of amide groups of proteins in different subcellular fractions of brain and liver of aging rats was studied. The experiments were carried out with the supernatant, purified mitochondrial, synaptosomal, myelin fractions of brain and supernatant and mitochondrial fraction, of liver.

It is stated that the content of hardly hydrolysing fractions of proteins were unchanged. Easily hydrolysing amide groups are significantly decreased in purified mitochondrial and myelin fractions of brain and in liver supernatant and mitochondrial fraction of senile animals, while in brain supernatant and synaptosomal fraction no age related changes were detected.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Парина Е. В.—В кн.: Возраст и обмен белков, Харьков, Изд-во ХГУ, 1967.
2. Врба Р. Успехи совр. биол., 41, 321—352, 1956.
3. Гершеневич З. С., Кричевская А. А., Лукаш А. И., Ходыкина Н. А.—В кн.: 3-я Всес. конф. по биохимии нервной системы (под ред. А. В. Палладина и Г. Х. Буниятына), Ереван, Изд-во АН АрмССР, с. 91—101, 1963.
4. Арутюнян А. В., Микаелян Э. М. Вопросы биохимии мозга, Изд-во АН АрмССР, 1, 113—116, 1964.

5. Мартинсон Э. Э., Тяхеылд Л. Я. Рефераты 5 Междунар. биох. конгр., М., 1, 51, 1961.
6. Гордиенко Э. А. Ж. эвол. биохим. и физиол., 3, 314—320, 1967.
7. Бунятыан Г. Х., Априкян Г. В., Мкртчян Г. А. Вопросы биохимии мозга, Изд-во АН АрмССР, 6, 87—108, 1970.
8. Kirzinger S. S., Fonda M. L. Exp. Geront., 13, 255—257, 1978.
9. Браунштейн А. Е., Азарх Р. М. Биохимия, 9, 337, 1944.
10. Априкян Г. В., Шагинян В. А. Вопросы биохимии мозга, Изд-во АН АрмССР, 8, 91—105, 1973.
11. Setlow B., Burger R., Lowenstein G. M. J. Biol. Chem., 241, 1244—1245, 1966.
12. Бунятыан Г. Х., Арутюнян А. В. Вопросы биохимии мозга, Изд-во АН АрмССР, 4, 29—39, 1968.
13. Мкртчян Г. А., Априкян Г. В., Паронян Ж. А. Ж. эвол. биохим. и физиол., 17, 176—181, 1981.
14. Шагинян В. А., Бунятыан Г. Г., Априкян Г. В. ДАН АрмССР, 62, 178—183, 1976.
15. Гордиенко Э. А. 1-й Всес. биохим. съезд, тез. докл., М.—Л., Изд-во АН СССР, 2, с. 124, 1963.
16. Гордиенко Э. А. Ж. эвол. биохим. и физиол., 3, 35—39, 1967.
17. Кричевская А. А., Лукаш А. И., Пушкина Н. В., Шерстнев К. Б., Менджерский А. М., Вовченко И. Б. Вопросы биохимии мозга, Изд-во АН АрмССР, 13, 127—137, 1978.
18. Кричевская А. А., Лукаш А. И., Пушкина Н. В., Шепотиновская И. В., Кизельштейн А. Л. Всесоюз симп. «Молекулярные и клеточные механизмы старения», тез. докл., Киев, с. 93—95, 1981.
19. Gray E. A., Whittaker V. P. J. Anat. (London), 96, 79—88, 1962.
20. Bradford H. F., Bennet J. M., Thomas A. J. J. Neurochem., 21, 495—505, 1973.
21. Априкян Г. В., Паронян Ж. А., Мкртчян Г. А., Мусаелян С. С. ДАН АрмССР, 62, 50—53, 1976.
22. Априкян Г. В., Мкртчян Г. А., Бунятыан Г. Х. Ж. эвол. биохим. и физиол., 7, 467—472, 1971.
23. Силакова А. И., Труш Г. П., Являкова А. Вопросы мед. химии, 8, 538—544, 1962.
24. Vrba R., Kothary K. J. Neurochem., 8, 65—71, 1961.
25. Априкян Г. В., Шагинян В. А., Паронян Ж. А., Мкртчян Г. А., Адунц Э. Г., Ахвердян Э. С., Меликян А. М. 4-й Всесоюз. биохим. съезд, тез. научн. сообщ., Л., Наука, 2, 144—145, 1979.
26. Априкян Г. В., Паронян Ж. А., Мкртчян Г. А., Адунц Э. Г. Всесоюз. симп. «Молекулярные и клеточные механизмы старения», тез. докл., Киев, с. 13—14, 1981.
27. Гордиенко Э. А.—В сб.: Молекулярная биология старения, Киев, Наукова думка, с. 74—78, 1969.

Институт биохимии АН Армянской ССР,
Ереван

Поступила 22. III 1982

УДК 618.33—001.8—07:616.831—008.934.66—074

К ВОПРОСУ О ВЛИЯНИИ АНТЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ НА РЕГИОНАЛЬНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ФОНДА СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ МОЗГА КРЫС

ТУРОВА Н. Ф., БАРЫШНИКОВ В. А.

Исследовалось региональное распределение свободных аминокислот в головном мозгу 70-дневных крысят, матери которых в период беременности (через 14 дней от начала) перенесли высотную гипоксию. Показано, что наряду с имеющим место параллелизмом в изменении фонда отдельных аминокислот (лизин, аланин, аргинин, лейцин) по ряду отделов (промежуточный, средний, продолговатый мозг, мозжечок) можно наблюдать и отличные от других отделов количественные изменения в аммоновом роге (фенилаланин), в среднем мозгу (тирозин). Отмечено также изменение спектра свободных аминокислот в сыворотке крови.

Аntenатальное повреждение плода в настоящее время рассматривается как фактор риска постнатального нарушения нервно-психического развития (психический дизонтогенез) и возникновения легких форм умственной отсталости [1, 2].

Предполагалось, что в основе приобретенных в онтогенезе легких форм умственной отсталости могут лежать изменения обмена тех же аминокислот, что и при аминокислотных энзимопатических олигофрениях. Ранее в модельных экспериментах на животных было показано, что перенесенная в антенатальный период гипоксия по мере развития мозга в постнатальном онтогенезе (14 и 30 дней после рождения) сопровождается асинхронностью созревания фонда отдельных аминокислот и нарастанием аминокислотного дисбаланса в больших полушариях и стволовой части мозга к 30-дневному возрасту [3].

В задачу работы входило выявление последствий влияния антенатальной гипоксии на фонд свободных аминокислот различных отделов мозга в более отдаленные сроки развития животного. Исследовалась и кровь животных с целью возможного применения полученных результатов в клинике.

Материалы и методы

Работа выполнена на 70-дневном потомстве белых беспородных крыс, которых через 14 дней от начала беременности на 2 ч помещали в барокамеру, где создавали режим гипоксии, соответствующий подъе-

му на высоту 8 км. Исследование аминокислот проводилось на автоматическом аминокислотном анализаторе фирмы «Hitachi», забой животных и депротеинизация тканей осуществлялись как было описано ранее [3].

Результаты и обсуждение

Результаты наших исследований, касающиеся регионального распределения аминокислот у контрольных животных, в основном совпадают с литературными данными [4].

Представленные в табл. 1—3 данные свидетельствуют о том, что в крови и во всех изученных отделах мозга, за исключением коры больших полушарий и белого вещества, происходят выраженные изменения в содержании отдельных аминокислот: увеличение концентрации гистидина в крови, мозжечке и промежуточном мозгу; лизина—в среднем, продолговатом мозгу и мозжечке; цистатионина—в среднем, продолговатом мозгу и мозжечке; аланина—в промежуточном и среднем мозгу и т. п. Наибольший спектр изменений обнаружен для среднего мозга—9 компонентов, далее в убывающем порядке следуют продолговатый мозг, аммонов рог, мозжечок, промежуточный мозг, кора и белое вещество. В крови повышена концентрация 5 компонентов.

Как известно, многие из аминокислот являются не только предшественниками биосинтеза белков, пептидов, модулирующих поведение животного, медиаторов, гормонов, но и компонентов трикарбонового цикла (ЦТК). Тирозин, лейцин, лизин, изолейцин могут явиться предшественниками CoASAc [5]. В настоящее время в литературе дискутируется вопрос о влиянии гипоксии, в частности так называемой мягкой (mild) гипоксии, на конкуренцию за CoASAc между медиаторным и энергетическим обменами [6, 7] в ущерб медиаторному. Gibson [8] считает, что чувствительность мозга к кислороду должна быть обусловлена изменениями в метаболизме аминокислот и такого медиатора, как ацетилхолин. Увеличение фонда указанных выше аминокислот можно предположительно связать с их неполным использованием в синтезе CoASAc, что может его лимитировать. Поэтому введение детям с умственным недоразвитием препарата «пантогам», в состав которого входит пантотеновая кислота, имеет определенный терапевтический эффект [9]. Учитывая предыдущие исследования [3], можно полагать, что обнаруживаемая у животных с антенатальной патологией в более ранний период постнатального онтогенеза (14 и 30 дней) асинхрония в созревании фонда свободных аминокислот мозга подготавливает почву для последующей его расбалансировки. Исходя из теории Хочачка и Сомеро о двух сторонах метаболической адаптации [10], а также способности нервной ткани к запоминанию патологического процесса [11, 12], мы предполагаем, что эксплуатативное звено метаболической адаптации (в описанном нами случае изменение содержания отдельных аминокислот, не компенсируемое с возрастом) в

развивающемся мозгу может «запомниться» и перейти в стойкое патологическое состояние. Формирование последнего на метаболическом уровне, очевидно, во многом связано с эксплуатативными процессами, сопровождающимися образованием веществ, способствующих как бы «выживанию» органа в борьбе с патогенным влиянием. Из-за способности нервной ткани к фиксации информации патологическое состояние «запоминается».

Таблица 1

Содержание свободных аминокислот и нингидринположительных компонентов (мкмоль/г) в отделах мозга у 70-дневных крысят, подвергшихся воздействию гипоксии в антенатальном периоде (п=5—7)

Компонент	Контроль	Опыт	p
Кора больших полушарий			
Фосфосерин	$0,07 \pm 0,01$	$0,12 \pm 0,01$	$< 0,05$
Треонин	$2,65 \pm 0,19$	$0,83 \pm 0,08$	$< 0,001$
Белое вещество			
Треонин	$1,26 \pm 0,26$	$0,57 \pm 0,04$	$< 0,02$
Аммонов рог			
Фосфосерин	$0,05 \pm 0,02$	$0,11 \pm 0,01$	$< 0,05$
Фосфотаноламин	$1,17 \pm 0,03$	$0,77 \pm 0,06$	$< 0,001$
Треонин	$1,42 \pm 0,27$	$0,78 \pm 0,07$	$< 0,05$
Серин	$1,13 \pm 0,06$	$0,75 \pm 0,07$	$< 0,01$
Изолейцин	$0,040 \pm 0,003$	$0,030 \pm 0,003$	$< 0,05$
Фенилаланин	$0,050 \pm 0,006$	$0,030 \pm 0,006$	$< 0,05$
Промежуточный мозг			
Аланин	$0,35 \pm 0,04$	$0,51 \pm 0,04$	$< 0,02$
Лейцин	$0,050 \pm 0,009$	$0,090 \pm 0,007$	$< 0,01$
Гистидин	$0,090 \pm 0,007$	$0,110 \pm 0,006$	$< 0,05$
Аргинин	$0,12 \pm 0,01$	$0,15 \pm 0,01$	$< 0,05$
Средний мозг			
Фосфосерин	$0,020 \pm 0,005$	$0,040 \pm 0,007$	$< 0,05$
Фосфотаноламин	$0,83 \pm 0,06$	$0,54 \pm 0,10$	$< 0,05$
Таурин	$1,32 \pm 0,06$	$1,82 \pm 0,17$	$< 0,02$
Аланин	$0,17 \pm 0,03$	$0,26 \pm 0,03$	$< 0,05$
Цистатионин	$0,05 \pm 0,01$	$0,090 \pm 0,004$	$< 0,01$
Лейцин	$0,040 \pm 0,005$	$0,060 \pm 0,007$	$< 0,05$
Тирозин	$0,030 \pm 0,005$	$0,060 \pm 0,008$	$< 0,01$
Лизин	$0,30 \pm 0,01$	$0,47 \pm 0,03$	$< 0,01$
Аргинин	$0,12 \pm 0,01$	$0,17 \pm 0,01$	$< 0,02$
Продолговатый мозг			
Фосфосерин	$0,030 \pm 0,005$	$0,015 \pm 0,003$	$< 0,05$
Таурин	$1,16 \pm 0,09$	$1,83 \pm 0,06$	$< 0,001$
Треонин	$1,01 \pm 0,13$	$0,61 \pm 0,03$	$< 0,02$
Серин	$0,52 \pm 0,05$	$0,41 \pm 0,02$	$< 0,05$
Цистатионин	$0,09 \pm 0,01$	$0,13 \pm 0,01$	$< 0,02$
Лейцин	$0,040 \pm 0,003$	$0,070 \pm 0,003$	$< 0,001$
Лизин	$0,32 \pm 0,02$	$0,52 \pm 0,04$	$< 0,001$
Аргинин	$0,130 \pm 0,009$	$0,21 \pm 0,01$	$< 0,001$

Таблица 2

Содержание свободных аминокислот и нингидринположительных компонентов (мкмоль/г) в мозжечке у 70-дневных крысят, подвергшихся воздействию гипоксии в антенатальном периоде (n=5-7)

Компонент	Контроль	Опыт	p
Фосфосерин	0,030±0,007	0,06±0,01	<0,02
Цистатионин	0,17±0,02	0,51±0,06	<0,001
Лизин	0,24±0,02	0,38±0,03	<0,01
Гистидин	0,070±0,004	0,100±0,004	<0,001
Аргинин	0,110±0,008	0,15±0,01	<0,01

Таблица 3

Содержание свободных аминокислот (мг%) в сыворотке крови 70-дневных крысят, подвергшихся воздействию гипоксии в антенатальном периоде (n=6)

Компонент	Контроль	Опыт	p
Аспарагиновая кислота	0,43±0,05	0,96±0,07	<0,001
Серин	8,47±0,63	10,60±0,67	<0,05
Глутаминовая кислота	3,72±0,51	7,40±0,38	<0,001
Глицин	2,09±0,24	3,92±0,14	<0,001
Гистидин	0,57±0,09	0,88±0,08	<0,05

На эту двойственность метаболической адаптации в последнее время обращается внимание не только при изучении патогенных воздействий, но и при попытках регуляции нарушенного метаболизма с помощью лекарственных средств [13, 14]. Как видно из приведенных данных, последствия антенатальной гипоксии сказываются и на изменении состава свободных аминокислот сыворотки крови животных (табл. 3). Увеличение концентрации гистидина отмечалось ранее и в сыворотке крови детей с задержками психического развития, имевших в анамнезе перинатальную патологию [15].

При сопоставлении полученных результатов с описанными в литературе аминокислотными энзимопатиями [16], сопровождающимися психическим недоразвитием, можно отметить наблюдаемое в эксперименте повышение в крови гистидина, серина и глицина, имеющее место и при гистидинемиях, вызванных мутацией гена, контролирующего синтез гистидазы.

EFFECT OF ANTENATAL HYPOXIA ON THE REGIONAL DISTRIBUTION OF FREE AMINO ACIDS IN RAT BRAIN IN THE COURSE OF POSTNATAL ONTOGENESIS

TUROVA N. F., BARYSHNIKOV V. A.

Institute of Psychiatry, RSFSR Ministry of Health, Moscow

The distribution of free amino acids among different areas of rat brain has been studied in 70 days old animals exposed to high altitude hypoxia in antenatal period. Data obtained indicate that, besides similar

changes in the pools of individual amino acids (lysine, arginine, alanine, leucine) in diencephalon, midbrain, medulla oblongata and cerebellum, certain quantitative differences are detectable in the pool of phenylalanine in Cornu ammonis and in the pool of tyrosine in midbrain. A change in the spectrum of blood serum free amino acids has been also indicated. The results are interpreted as a manifestation of metabolic adaptation theory.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ковалева В. В. Ж. невропатологии и психиатрии им. С. С. Корсакова, 81, 1505—1509, 1981.
2. Деметьева Н. Ф., Сазонова Н. С., Перельмутер К. А. Ж. невропатологии и психиатрии им. С. С. Корсакова, 81, 1564—1573, 1981.
3. Турова Н. Ф., Барышников В. А. Вопросы мед. химии, 25, 622—626, 1979.
4. Shank R. P., Aprison M. H. Neurochem., 17, 1461—1475, 1970.
5. Ленинджер А. Биохимия, М., Мир, 1974.
6. Gibson G. E., Duffy T. E. Neurochem., 36, 28—33, 1981.
7. Gross I., Burgoyne R. D., Rose S. P. R. J. Neurochem., 37, 229—237, 1981.
8. Gibson G. E., Peterson Ch., Sanson J. J. Neurochem., 37, 192—201, 1981.
9. Ермолина Л. А.—В сб.: Вопросы ранней диагностики психических заболеваний (под ред. А. А. Портнова), М., вып. 3, 166—178, 1978.
10. Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации (под ред. Е. М. Крепса), М., Мир, 1977.
11. Варганян Г. А. Память и органические повреждения мозга. (Доклад на 4-м пленуме проблемной комиссии «Принципы управления памятью в норме и патологии», Пушкино-на-Оке, 1979).
12. Бехтерева Н. П., Камбарова Д. К., Поздеев П. К. Устойчивое патологическое состояние при болезни мозга. Л., Медицина, 1978.
13. Штыхно Ю. М., Титова Н. П. Пат. физиол. и эксперимент. терапия, 3, 31—38, 1979.
14. Турова Н. Ф., Барышников В. А.—В сб.: Клинические, социальные и биологические аспекты компенсации и адаптации при нервно-психических заболеваниях (под ред. С. Ф. Семенова), М., с. 179—185, 1979.
15. Турова Н. Ф., Барышников В. А., Азявичик А. В., Ермолина Л. А.—В сб.: Врожденная патология мозга в клинике и патогенезе нервно-психических расстройств (под ред. С. Ф. Семенова), М., с. 135—141, 1979.
16. Эфроимсон В. П., Блюмина М. Г. Генетика олигофрений, психозов, эпилепсий. М., Медицина, 1978.

Московский научно-исследовательский
институт психиатрии МЗ РСФСР

Поступила 26. II 1982

УДК 615.832.9.015.42:612.82.015.3

ВЛИЯНИЕ ГИПОТЕРМИИ НА ПОГЛОЩЕНИЕ
АМИНОКИСЛОТ СРЕЗАМИ МОЗГА

ЭМИРБЕКОВ Э. З.

Исследована интенсивность поглощения меченых C^{14} -глутамата, аспартата, ГАМК, валлина, гистидина и аминокислотной кислоты срезами мозга охлажденных (20°) крыс. Инкубация срезов мозга при 37° у охлажденных крыс не приводила к выраженным сдвигам по сравнению с нормотермическими животными. Инкубация срезов мозга гипотермических животных при 20° снижала интенсивность поглощения аминокислот по сравнению с инкубацией при 37° . Результаты показали, что соотношение максимального поглощения аминокислот (за исключением аминокислотной кислоты и гистидина) при температуре инкубации срезов 37° и 20° у гипотермических крыс возрастало по сравнению с таковым у нормотермических животных. У охлажденных до 20° крыс поглощение каждой отдельной аминокислоты срезами мозга изменяется в различной степени в зависимости от времени инкубации (5, 10, 15 и 30 мин).

Аминокислоты в мозгу играют полифункциональную роль [1—4]. Содержание аминокислотного фонда в ткани мозга зависит от активности их транспорта и метаболизма. Компартиментализация аминокислот определяется избирательным транспортом и различной способностью клеточных структур поглощать аминокислоты [5, 6]. Установлено, что по транспортному механизму в срезах мозга аминокислоты делятся на 18 различных классов [5—7]. Такое многообразие обусловлено длиной углеродной цепи, местом расположения и характером функциональных групп в молекуле аминокислот, а также ингибирующим влиянием их самих на поглощение из среды [8]. Важной характеристикой транспорта аминокислот в срезах мозга является установление равновесия их поглощения в динамике времени инкубации [5, 9]. Срезы мозга аккумулируют аминокислоты в зависимости от присутствия K^{+} , Na^{+} и содержания АТФ [8]. Для транспорта всех аминокислот характерна температурная зависимость [9, 10]. Общее охлаждение теплокровного организма приводит к значительному уменьшению в мозгу энергетического обмена и аминокислотного фонда [11, 12], что может сказаться на клеточном транспорте аминокислот в тканях мозга. В то же время ранее нами не был обнаружен эффект гипотермии на транспорт аминокислот из циркулирующей крови в мозг [13].

Целью работы явилось изучение влияния глубокой гипотермии на поглощение аминокислот срезами мозга в зависимости от температуры и времени инкубации.

Эксперименты проведены на крысах линии Вистар массой 250—275 г. До начала опытов животным внутрибрюшинно в течение 30 мин вводили хлоралгидрат (380 мг/кг массы тела). Охлаждали крыс в ледяной воде. Температуру измеряли ректально и в среднем ухе, а после обезглавливания в самой ткани мозга. При пребывании в холодной воде 50—55 мин температура среднего уха и мозга снижалась до 20°, а ректальная при этом была на 2—3° ниже [13]. Для опытов использовали только тех животных, у которых температура ткани мозга после декапитации равнялась 20°. В отдельной серии экспериментов в кровь охлажденных крыс вводили синий Иванс. При температуре мозга, равной 20°, выход краски не наблюдался, следовательно, в данных условиях мозг механически не повреждался. Контрольных и подопытных крыс декапитировали, быстро извлекали мозг (без мозжечка), очищали от крови. Из обонх полушарий головного мозга готовили срезы (0,4 мм) при помощи микротомы Мак-Ильвейна. Срезы инкубировали в среде, содержащей в мМ: NaCl—119; KCl—5,0; CaCl₂—0,75; MgCl₂—12; NaH₂PO₄—1,0; глюкозы—10 и N-2-гидроксиэтилпиперазин-N'-2-этансульфаниловой кислоты—25 [9]. Добавлением NaOH pH среды доводили до 7,35.

Инкубацию срезов мозга (~140 мг ткани на 5 мл среды) проводили в водяной бане при 37° и 20°. Через 30 мин в среду добавляли меченые C¹⁴-аминокислоты (0,05 мкК_u/5 мл) фирмы «New England Nuclear» при конечной концентрации 1 мМ для L-аспартата, L-валина, D-глутамата, ГАМК, L-гистидина и 2 мМ для α-аминонормасляной кислоты. Выбор указанных аминокислот для исследования продиктован тем, что изучены динамическое равновесие, кинетические параметры и энергия активации поглощения этих аминокислот в срезах мозга интактных животных [10]. Все выбранные 5 аминокислот и аналог ГАМК—аминонормасляная кислота относятся к отдельным транспортным классам по длине углеродной цепи, месту расположения, характеру и количеству функциональных групп [6, 8].

Для определения интенсивности поглощения аминокислот инкубацию срезов продолжали 5, 10, 15 и 30 мин [9]. После инкубации срезы мозга фильтровали, замораживали с помощью сухого льда, взвешивали, гомогенизировали в 2 мл 3% раствора хлорной кислоты и через 15 мин центрифугировали. 0,5 мл надосадочной жидкости добавляли к 15 мл сцинтилляционной жидкости [8] и измеряли радиоактивность на сцинтилляционном счетчике Inter technique SL 30, Teledyne (США). Всесцинтилляционным счетчиком срезами мозга выражали в мкмоль величину поглощения аминокислот, включенных в ткань мозга. Для вычисления внесклеточного пространства использовали C¹⁴-карбоксипиперидин [14]. В параллельных опытах с добавлением немеченого инулина определяли содержание воды высушиванием срезов при 95° (48—72 ч) до постоянного веса. Концентрацию поглощенной аминокислоты вычисляли согласно

по формуле: $(T - M \times E / 1 - E) - M$, где T — концентрация аминокислоты в ткани (мкмоль/мл тканевой воды), M — концентрация аминокислоты в среде в конце инкубационного периода (мкмоль/мл среды) и E — внеклеточное пространство срезов по инулину (мл/мл тканевой воды). При кратковременной инкубации низкие концентрации меченых аминокислот мало подвергаются метаболическим превращениям [14]. Полученные данные были подвергнуты вариационно-статистической обработке [15]. Каждая цифра является средней из 6 опытов.

Результаты и обсуждение

Результаты, приведенные в табл. 1, показали, что поглощение аминокислот в срезах мозга контрольных нормотермических крыс значительно снижалось при температуре инкубации 20° по сравнению с таковым при 37°, что совпадает с литературными данными [8]. Наибольшее снижение поглощения наблюдалось для аминокислоты — 9,3, ГАМК — 2,2, гистидина — 2,7 раза.

Таблица 1

Поглощение меченых аминокислот (мкмоль/мл внутриклеточной жидкости) срезами
мозга крыс, охлажденных до 20° ($n=6$; время инкубации 30 мин)

Аминокислоты	Контроль нормотермия (36—37°)		Гипотермия (20°)	
	Температура инкубации			
	37°	20°	37°	20°
Глутамат	31,97±0,43	19,57±0,44	32,55±0,65	16,28±0,60
Аспарат	31,54±0,99	20,85±0,04	36,01±0,71	18,41±0,25
ГАМК	28,72±1,40	13,01±0,56	29,64±0,44	7,46±0,31
Аминоизомасляная кислота	18,08±0,28	1,93±0,02	16,69±0,09	3,59±0,18
Валин	5,40±0,13	4,43±0,03	8,11±0,43	5,72±0,30
Гистидин	11,93±0,24	4,43±0,21	14,71±0,52	5,04±0,04

Представляло интерес изучение поглощения указанных аминокислот срезами мозга крыс, предварительно охлажденных до 20°. Проведенные исследования показали, что у охлажденных до 20° крыс поглощение аминокислот срезами мозга при инкубации 37° не подвергалось выраженным сдвигам по сравнению с нормотермическими животными. Примечательно, что инкубация срезов мозга гипотермических животных при 20° также приводила к снижению интенсивности поглощения по сравнению с инкубацией при 37°. Из опытов следует, что интенсивность поглощения аминокислот при 20°, за исключением аминокислоты гистидина, у гипотермических животных снижалась значительно больше, чем у нормотермических животных. Наибольшее снижение поглощения в срезах гипотермических животных при температуре инкубации 20° по сравнению с таковым при 37° наблюдалось

для аминокислоты—в 4,6, ГАМК—4, гистидина—2,9, глутамата и аспартата—2 раза.

Мы вычисляли соотношение поглощения аминокислот срезами мозга у нормо- и гипотермических крыс (табл. 2) при температуре инкубации 37° и 20°. Оказалось, что за исключением аминокислоты глутамата и гистидина для всех аминокислот у нормо- и гипотермических

Таблица 2

Соотношение поглощения аминокислот срезами мозга у нормо- и гипотермических (20°) крыс при температуре инкубации 37° и 20° (время инкубации 30 мин)

Аминокислоты	Соотношение поглощения аминокислот у нормо- и гипотермических крыс	
	Температура инкубации срезов	
	37°	20°
Глутамат	0,98	1,20
Аспартат	0,88	1,95
ГАМК	0,97	1,74
Аминокислотная кислота	1,08	0,53
Валин	0,68	0,90
Гистидин	0,81	0,88

ских крыс при температуре инкубации 20° оно было гораздо выше, чем при 37°. При этом из сильноокислых аминокислот в большей степени повышалось соотношение поглощения аспартата. Видимо, охлаждение организма изменяло транспортную систему аминокислот, связанную с длинной углеродной цепью [6], что приводило к снижению сродства поглощения аминокислоты с короткой углеродной цепью. Значительно увеличилось при температуре инкубации 20° соотношение поглощения ГАМК у нормо- и гипотермических крыс. В то же время степень повышения этого соотношения для валина была гораздо ниже, чем для ГАМК (табл. 2). По-видимому, снижение температуры тела оказывало неодинаковый эффект на транспортный механизм нейтральных аминокислот (ГАМК и валина). В литературе имеются сведения о том, что на транспортную систему аминокислот влияет место расположения аминогруппы в ее молекуле [6]. Соотношение поглощения аминокислоты с гетероциклической цепью—гистидина срезами мозга при температуре инкубации 20° у нормо- и гипотермических крыс увеличивалось незначительно (на 0,07) по сравнению с таковым при температуре инкубации 37°.

Полученные результаты показали, что различная степень влияния гипотермии на поглощение аминокислот срезами мозга, видимо, объясняется не только прямым эффектом низкой температуры тела на различные чувствительные системы клеточного транспорта аминокислот, но и косвенным влиянием ее на метаболизм аминокислот в тканях мозга [12]. Как видно (табл. 1 и 2), поглощение метаболически

инертной аминокислотой в срезах мозга охлажденных крыс значительно отличалось от поглощения аминокислот, обладавших высокой метаболической активностью в тканях головного мозга [1—4]. Известно, что на транспорт аминокислот *in vitro* влияют эндогенные превращения аминокислот [6].

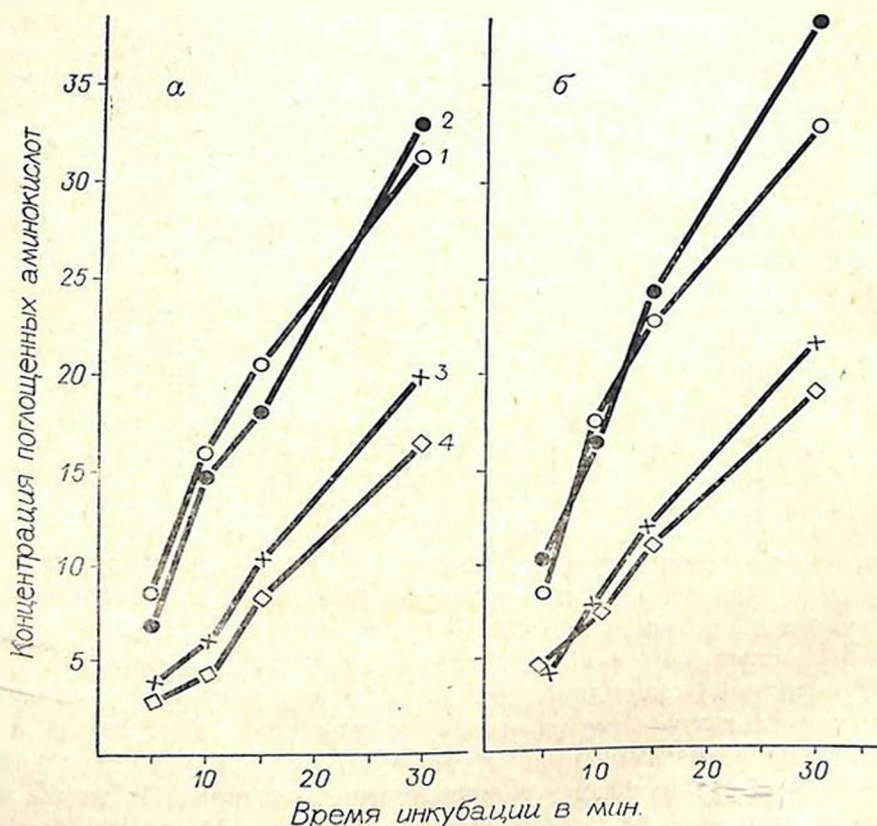


Рис. 1. Зависимость поглощения глутамата (а) и аспартата (б) срезами мозга контрольных (нормотермических) и охлажденных до 20° (гипотермических) крыс ($\mu\text{моль}/\text{мл}$ внесклеточной жидкости) от времени и температуры инкубации. Здесь и на рис. 2: 1—контрольные животные, 2—гипотермические (инкубация при 37°); 3—контрольные, 4—гипотермические (инкубация при 20°)

В этом отношении интерес представляют результаты по измерению активности поглощения аминокислот срезами мозга охлажденных крыс в динамике инкубации (рис. 1, 2). Динамика транспорта глутамата, аспартата, ГАМК и гистидина в срезах мозга в течение 5, 10, 15 и 30 мин у нормотермических и охлажденных (20°) крыс при температуре инкубации 37° и 20° различалась. Для глутамата поглощение срезами мозга контрольных и охлажденных животных при инкубации 37° в течение всего периода инкубации не подвергалось существенным сдвигам (рис. 1). При инкубации срезов в условиях 20° гипотермия приводила к снижению интенсивности поглощения глутамата во время

всего периода инкубации. Поглощение аспартата в срезах контрольных и охлажденных животных при температуре 37° и 20° нарастало в одинаковой степени в течение всего периода инкубации.

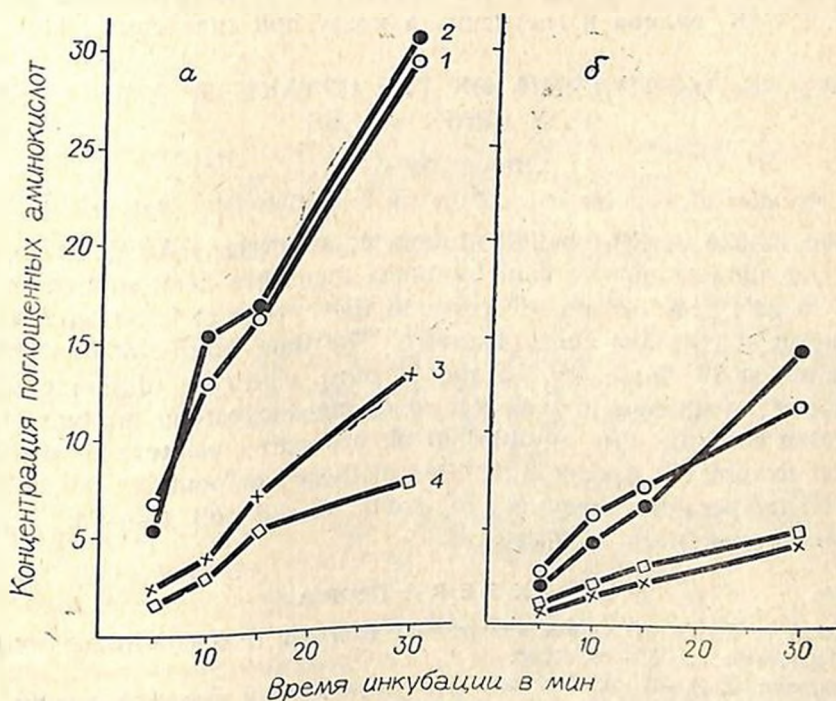


Рис. 2. Зависимость поглощения ГАМК (а) и гистидина (б) срезами мозга контрольных (нормотермических) и охлажденных до 20° (гипотермических) крыс ($\mu\text{моль}/2 \text{ мл}$ внутриклеточной жидкости) от времени и температуры инкубации

У охлажденных крыс срезы мозга при 37° поглощали ГАМК из среды с той же интенсивностью, что у контрольных животных (рис. 2) через 5, 15 и 30 мин инкубации. К 10-й мин инкубации срезы мозга охлажденных крыс при этом несколько больше поглощали ГАМК, чем срезы intactных животных. При температуре инкубации 20° в срезах мозга как нормо-, так и гипотермических крыс в течение 5, 10 и 15 мин поглощение ГАМК нарастало в одинаковой степени, затем к 30-й мин инкубации оно у гипотермических животных значительно снижалось по сравнению с нормотермическими.

Инкубация срезов мозга при 37° у контрольных и охлажденных (20°) крыс приводила почти к одинаковому поглощению основной аминокислоты—гистидина в течение 5, 10 и 15 мин, при дальнейшей инкубации до 30 мин оно происходило в срезах мозга гипотермических крыс более интенсивно, нежели у контрольных.

На сохранение относительно высокой способности поглощения аминокислот срезов мозга охлажденного организма в условиях низкой температуры инкубации (20°), по всей вероятности, оказывают влияние сложные метаболические превращения дикарбоновых аминокислот, ГАМК, валина и гистидина в мозгу при гипотермии [12].

EFFECT OF HYPOTHERMIA ON THE UPTAKE OF AMINO ACIDS BY BRAIN SLICES

EMIRBEKOV E. Z.

Laboratory of Neurochemistry, Dagestan State University, Makhachkala

The uptake of C¹⁴-labelled glutamate, aspartate, GABA, valine, histidine and aminoisobutyric acid by brain slices has been studied in rats cooled to 20°. The certain decrease in the uptake of these compounds (incubation at 20°) has been observed. The time course of this process (incubation at 20° for 5, 10, 15 and 30 min) varies for different amino acids tested. A change in temperature of the incubation mixture to 37° produces a shift in the equilibrium of aspartate, valine and histidine transport toward the greater quantities of these compounds.

The temperature-dependent regulation of the cell transport system in normothermal brain is suggested.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бунятян Г. Х.—В кн.: Обмен аминокислот (под ред. П. А. Кометнани), Тбилиси, Мецниереба, с. 85—98, 1968.
2. Кометнани П. А.—В кн.: Вопросы биохимии нервной и мышечной системы. Тбилиси, Мецниереба, 2, с. 101—113, 1972.
3. Палладин А. В. Вопросы биохимии нервной системы, Киев, Наукова думка, 184 с., 1965.
4. Maker H. S., Clarke D. D., Lajtha A.—In.: Basic Neurochemistry (Eds. Siegel G. J., Albers R. W., Katzman R. and Agranoff B. W.), Little, Brown and Company, Boston, p. 279—307, 1976.
5. Neidle A., Kander J., Lajtha A. Arch. Biochem. and Biophys., 169, 397—405, 1975.
6. Blasberg R., Lajtha A. Brain Res., 1, 86—104, 1966.
7. Lajtha A.—In: Aromatic Amino Acids in the Brain, Elsevier, Excerpta Medica North-Holland, Amsterdam, p. 25—49, 1974.
8. Banay-Schwartz M., Teller D. N., Gergely A., Lajtha A. Brain Res., 71, 117—131, 1974.
9. Banay-Schwartz M., Lajtha K., Sershen H., Lajtha A. Neurochemical Res., 2, 695—706, 1977.
10. Cohen S. R. J. Membr. Biol., 22, 53—72, 1975.
11. Эмирбеков Э. З. Функциональная нейрохимия, Махачкала, ДГУ, 125 с., 1980.
12. Абдуллаев Р. А., Эмирбеков Э. З. Вопросы мед. химии, 6, 802—807, 1980.
13. Emirbekov E. Z., Sershen H., Lajtha A. Brain Res., 125, 187—191, 1977.
14. Banay-Schwartz M., Piro L., Lajtha A. Arch. Biochem. and Biophys., 145, 199—210, 1971.
15. Бейли Н. Математика в биологии и медицине, М., Мир, 326 с., 1970.

Проблемная лаборатория нейрохимии
ДГУ, Махачкала

Поступила 14.X 1981

УДК 612.8.015:616.001.31

РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА ГЛИКОГЕНА МОЗГА ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ

ПРОМЫСЛОВ М. Ш., СМЕРНОВ А. В., АКОПЯН А. С.

Показано накопление гликогена в мозгу при черепно-мозговой травме и заметное снижение активности γ -амилазы мозга.

При стимуляции нервной деятельности травмированных животных восстанавливается активность γ -амилазы мозга до исходного уровня, в то время как при торможении ЦНС у подопытных животных активность этого фермента полностью подавляется, что приводит к еще более значительному увеличению содержания гликогена в ткани мозга.

Нарушение биохимических процессов часто может явиться первичным в развитии различных патологических состояний.

Направленная регуляция обменных процессов в мозгу в условиях патологии, а также установление молекулярного субстрата поражения должны явиться основой рациональной терапии.

Использование стимуляторов или ингибиторов ферментных систем мозга для воздействия на определенное звено обмена в условиях патологии ЦНС не всегда приемлемо из-за наличия ГЭБ. В этих условиях существенным фактором, влияющим на метаболизм мозга, может стать регуляция функционального состояния ЦНС.

Известно, что мозг позвоночных животных использует углеводы, главным образом глюкозу [1, 2], поступающую из крови, а также образующуюся из имеющегося гликогена. Содержание гликогена в мозгу колеблется в широких пределах, от 20 до 120 мг% [3, 4], причем в условиях нормы он не накапливается в мозговой ткани, по-видимому, вследствие интенсивного обмена [5]. При различных патологических состояниях (облучение, длительная анестезия, выздоравливание после различных гипоксий) у млекопитающих отмечается увеличение количества гликогена мозга [6—8]. Потребность мозга в глюкозе при черепно-мозговой травме резко возрастает в связи с тем, что значительная ее часть используется по пути анаэробного гликолиза. Это обусловлено нарушениями в цепи окислительного фосфорилирования [9] и повреждением ультраструктуры митохондрий [10]. Это положение ставит вопрос о роли гликогена мозга в общем процессе обмена глюкозы.

Нам представлялось важным выяснить, как изменяется содержа-

ние гликогена в клетках мозга под влиянием черепно-мозговой травмы. Содержание гликогена исследовали электронномикроскопическим методом, что позволило вместе с определением количества его частиц получить данные о характере их распределения в различных участках мозга и отдельных клетках. Была исследована также активность ферментов его распада (γ -амилазы и фосфорилазы) и влияние изменения функционального состояния ЦНС травмированных животных на обмен гликогена в мозгу.

Материалы и методы

Опыты проводили на кроликах-самцах породы шиншилла массой 2,2—2,8 кг. Закрытую дозированную черепно-мозговую травму наносили ударом свободно падающего груза массой 500 г с высоты 2,2 м на голову фиксированного в станке животного. Животных забивали воздушной эмболией. Мозг быстро извлекали, взвешивали и гомогенизировали с 3-мя объемами 0,1 N ацетатного буфера (pH 4,55), содержащего 0,001 M ЭДТА.

Гомогенат прогревали при 55° в течение 30 мин. Образовавшийся осадок удаляли центрифугированием. Надосадочную жидкость, представляющую собой ферментный препарат γ -амилазы, не содержащей примеси α -амилазы, инкубировали с гликогеном. Об активности γ -амилазы судили по количеству образовавшейся глюкозы. В качестве субстрата γ -амилазы использовали гликоген печени кролика. Удельную активность γ -амилазы выражали в ммоль глюкозы/мг белка/мин.

Активность фосфорилазы в головном мозгу определяли по методу Hergs [11], измеряя количество P_i по методу Fiske и Subarow [12]. Активность фосфорилазы, определяемую в присутствии АМР, обозначали как общую фосфорилазу, а отсутствие АМР—как фосфорилазу А. Удельную активность фосфорилазы выражали в ммоль P_i /мг белка/мин $\times 100$. Содержание белка в пробах определяли [по методу Lowry и соавт. [13].

Для электронномикроскопического выявления гликогена исследовали кусочки коры, белого вещества и ствола мозга экспериментальных животных при помощи трех методов. Два из них основывались на обработке срезов: первый—контрастирование 3% раствором йодной кислоты по Perry [14], второй—обработка срезов раствором висмута по Shinji и соавт. [15]. Кроме того, применяли инкубацию тканей в растворе кармина по Thiemann [16]. Применение комплекса методик увеличивало достоверность полученных данных. Отметим, что все они дали сходные результаты в каждом опыте. Ткань заливали в аралдит, ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB и изучали в электронном микроскопе JEM-100 В. В качестве контроля служил мозг интактных животных.

Стимуляцию ЦНС вызывали введением животным фенамина (0,6 мг на 1 кг) или стрихнина (0,2 мг на 1 кг) подкожно в виде 0,1% ра-

створа азотнокислого стрихнина. Торможение ЦНС вызывали введением смеси уретана с вероналом из расчета 400 мг уретана и 30 мг веронала на 1 кг массы животного.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что удельная активность общей фосфорилазы мозга не меняется, а удельная активность фосфорилазы А незначительно снижается через 10 мин и 24 ч после нанесения черепно-мозговой травмы (табл. 1). Эти данные полностью подтвердили наблюдения других авторов [6, 7], установивших, что активность фосфорилаз практически не изменяется и, таким образом, не может влиять на интенсивность распада гликогена.

Таблица 1

Активность γ -амилазы (нмоль глюкозы/мг белка/мин) и фосфорилазы (мкмоль P_i /мг белка/мин $\times 100$) в мозгу травмированных животных

Условия опыта	γ -Амилаза	Фосфорилаза	
		Общая	А
Норма	$4,41 \pm 0,51$ (7)	$10,1 \pm 0,5$ (7)	$6,1 \pm 0,5$ (7)
Через 10 мин после травмы	$5,76 \pm 0,36$ (6)	$9,1 \pm 0,5$ (8)	$4,3 \pm 0,4$ (8)
Через 24 ч после травмы	$2,53 \pm 0,19$ (5)	$9,3 \pm 1,6$ (6)	$4,8 \pm 0,4$ (6)
р	$<0,05$ $<0,01$	$>0,1$ $>0,1$	$<0,001$ $<0,01$

Примечание. В табл. 1—3 в скобках—количество опытов

Активность кислой γ -амилазы мозга кроликов исследовали в динамике патологического процесса: через 10 мин, 1 ч, 1 сутки и 3-е суток после травмы.

Оказалось, что активность этого фермента менялась в различные сроки после нанесения черепно-мозговой травмы, а именно: через 10 мин глюкоамилазная активность фермента несколько повышалась, через 1 ч замечена тенденция к понижению ее активности, а через 24 ч после нанесения травмы активность фермента оказывалась наименьшей. На 3-и сутки активность γ -амилазы нормализовалась.

В дальнейшем у подопытных животных определение активности фермента проводили в период ее повышения и максимального снижения, то есть через 10 мин и 24 ч с момента нанесения травмы (табл. 1).

Как следует из данных таблицы, во всех опытах активность γ -амилазы через 1 сутки после нанесения травмы резко уменьшалась.

Сопоставление активностей γ -амилазы и фосфорилаз помогло нам выяснить значение каждого из этих факторов в расщеплении гликогена мозга и установить, что решающую роль играет γ -амилаза. О важной

роли γ -амилазы в обмене гликогена свидетельствуют и литературные данные. Так, отсутствие этого фермента в печени, сердечной и скелетных мышцах приводит к значительному повышению количества гликогена в этих органах [17].

Электронномикроскопическое исследование содержания гликогена через 24 ч после травмы выявило значительное увеличение его количества во всех изученных отделах мозга.

В нейронах коры (рис. 1) гранулы гликогена лежали в цитоплазме в виде осmioфильных частиц размером 50—70 нм или группировались в более крупные агрегаты 180—400 нм. Иногда гранулы гликогена обмяруживали в матриксе или на мембранах митохондрий. В синапсах частицы гликогена располагались между синаптическими пузырьками как у синаптических мембран, так и по всей площади синаптической терминали.

Накопление гликогена в митохондриях и синапсах свидетельствует не только о нарушении углеводного обмена, но и оказывает негативное воздействие на функцию этих образований, усугубляя повреждение ультраструктуры синапсов и митохондрий вследствие воздействия черепно-мозговой травмы.



Рис. 1. Скопление частиц гликогена в цитоплазме нервной клетки коры: ГГ—гранулы гликогена, М—митохондрия, МТ—микротрубочки; $\times 42\,000$



Рис. 2. Гранулы гликогена в цитоплазме периваскулярного отростка астроцита: АО—астроцитарный отросток, БМ—базальная мембрана, ПК—просвет капилляра; $\times 30\,000$

Наибольшее увеличение количества гликогена найдено в глиальных отростках, окружающих нейроны, синапсы, и особенно в отростках, окружающих капилляры (рис. 2). Здесь интенсивное накопление гранул гликогена мы находили постоянно, даже в тех случаях, когда в других клетках мозга количество гликогена возрастало умеренно. Специфика такой локализации гликогена связывается с трофической функцией астроцитов, что находит подтверждение в биохимических исследованиях авторов, считающих, что астроглия включается в фосфорилирование глюкозы, перенося в нейроны глюкозо-6-фосфат. Если в результате патологического воздействия нейроны перестают его усваивать, в астроцитах накапливается гликоген [18].

В белом веществе мозга травмированных животных количество гликогена также увеличено. Особенности в его распределении по сравнению с корой мы не выявили, отметим только, что в цитоплазме немиелинизированных аксонов накопление гранул гликогена мы находили постоянно (рис. 3), а в аксоплазме миелинизированных отростков — очень редко.

Существенно увеличивалось количество гликогена в стволе мозга экспериментальных животных. Здесь повышенное содержание гликогена обнаруживали во всех компонентах мозговой ткани: в нейронах и их отростках, синапсах, глиальных клетках. Полагают, что это связано с большим значением гликогена для эволюционно более старых отделов мозга из-за большей их зависимости от анаэробного углеводного метаболизма при менее выраженном окислительном фосфорилировании [19].

Установив, что закрытая черепно-мозговая травма сопровождается значительным снижением активности γ -амилазы и повышением содержания гликогена в клетках мозга, мы стремились найти пути к устранению этих нарушений.

Показано, что стимуляция НС травмированных животных нормализует нарушенный энергетический обмен мозга [9, 20, 21].

Важно было выяснить, можно ли регулировать активность γ -амилазы в этих условиях опыта путем изменения функционального состояния ЦНС.

Таблица 2

Активность γ -амилазы (нмоль глюкозы/мг белка/мин) и фосфорилаз (мкмоль P_i /мг белка/мин $\times 100$) мозга контрольных животных при различных функциональных состояниях ЦНС

Фермент	Норма	Возбуждение		Торможение (сон)
		фенамин	стрихнин	уретан + веронал
γ -Амилаза	$4,41 \pm 0,51$ (7)	$5,82 \pm 0,41$ (7)	$6,91 \pm 0,24$ (7)	$2,72 \pm 0,11$ (7)
Фосфорилаза Р	$10,1 \pm 0,5$ (7)	$10,1 \pm 0,2$ (7)	$11,8 \pm 1,2$ (7)	$11,5 \pm 0,6$ (7)
Фосфорилаза Р	$6,1 \pm 0,5$ (7)	$3,6 \pm 0,5$ (7)	$1,5 \pm 0,4$ (7)	$6,6 \pm 0,3$ (7)
Фосфорилаза А (в отсутствие АМР) Р		$<0,01$	$<0,001$	$<0,1$

При введении фенамина и стрихнина контрольным животным удельная активность γ -амилазы повышается, а активность фосфорилазы А резко падает. Введение же смеси уретана с вероналом приводит к резкому снижению активности γ -амилазы, не оказывая влияния на активность фосфорилазы А. Воздействие этих фармакологических веществ практически не изменяло активности общей фосфорилазы (табл. 2).

Чтобы выяснить, является ли отмеченное выше действие фенамина и уретана с вероналом на активность γ -амилазы результатом непосредственного воздействия препаратов на мозговую ткань или же указанный эффект является следствием изменения функционального состояния ЦНС под воздействием этих веществ, мы исследовали влияние названных фармакологических агентов на активность γ -амилазы в опытах *in vitro*. Оказалось, что добавление к гомогенату мозга фенамина и уретана совместно с вероналом не оказывает никакого влияния на активность γ -амилазы, из чего можно сделать вывод, что изменение ее активности связано с функциональным состоянием ЦНС.

Особый интерес представлял вопрос: изменяется ли под воздействием тормозных и активирующих влияний на ЦНС активность γ -амилазы и фосфорилаз, а также содержание гликогена мозга у животных с черепно-мозговой травмой. С этой целью кроликам на 5-й мин после нанесения закрытой черепно-мозговой травмы вводили фенамин или смесь уретана с вероналом, а активность ферментов γ -амилазы и фосфорилаз исследовали через 1 сутки после травмы.

Таблица 3

Активность γ -амилазы (нмоль глюкозы/мг белка/мин) и фосфорилаз (мкмоль Р /мг белка/мин $\times 100$) мозга травмированных животных при введении им фенамина и смеси уретана с вероналом

Фермент	Норма	Через 24 ч после травмы	Травма, фенамин	Травма, уретан + ве- ронал
γ -Амилаза	$4,41 \pm 0,51$ (7)	$2,53 \pm 0,10$ (5)	$5,00 \pm 0,21$ (7)	$0,79 \pm 0,39$ (7)
р		$< 0,01$	$> 0,1$	$< 0,01$
Фосфорилаза общая	$10,1 \pm 0,5$ (7)	$9,3 \pm 1,6$ (6)	$16,9 \pm 6,8$ (7)	$0,9 \pm 0,3$ (7)
р		$> 0,10$	$< 0,001$	$> 0,10$
Фосфорилаза А	$6,1 \pm 0,5$ (7)	$4,0 \pm 0,4$ (5)	$9,4 \pm 0,3$ (3)	$6,7 \pm 0,3$ (7)
р		$< 0,01$	$< 0,001$	$> 0,1$

Как видно из табл. 3, стимуляция ЦС у подопытных животных через сутки после травмы приводит к увеличению активности γ -амилазы до контрольных величин, в то время как у животных без стимуляции активность γ -амилазы в этот период оказывается наименьшей. При торможении ЦНС активность этого фермента значительно подавляется, в некоторых случаях полностью.

Снижение активности γ -амилазы должно было привести к увеличению количества гликогена в ткани мозга. Действительно, при электронномикроскопическом изучении через сутки после травмы выявлялось выраженное по сравнению с нормой скопление гранул гликогена в различных отделах мозга, причем преимущественно в глиальных клетках и их отростках, а не в нейронах (рис. 4). Интересно отметить, что такое же избирательное накопление гликогена в глиальных элементах ЦНС обнаруживали у обезьян, перенесших суточный сон, вызванный фенобарбиталом, что связывали с трофической функцией астроци-

тов при репаративных процессах. Показано, что репаративная активность глины в период покоя после различных воздействий на ЦНС выше, чем у нейронов [22].

Что касается фосфорилаз, то под влиянием стимуляции (табл. 3) активность общей фосфорилазы и фосфорилазы А возрастает в 1,5 раза по сравнению с нормой. Торможение не меняет активности общей фосфорилазы, а активность фосфорилазы А возвращается при этом к норме.



Рис. 3. Гликоген в цитоплазме олигодендроглиозита белого вещества мозга: ГГ—гранулы гликогена, МА—миелинизированный аксон, ЦО—цитоплазматический олигодендроглиозит; $\times 36\ 000$



Рис. 4. Гранулы гликогена в астроците мозга животного после введения уридина с вероналом: ГГ—гранулы гликогена, А—астроцит; $\times 28\ 000$

Некоторые исследователи, отмечая, что гликогенсинтетаза не вовлечена в параллельные изменения гликогена и фосфорилазы, затрудняются объяснить начальное (10 мин) падение активности фосфорилазы А [7].

Приведенные данные по определению активностей γ -амилазы и фосфорилаз в норме и при черепно-мозговой травме подтверждают уже высказанную мысль о том, что изменение содержания гликогена в ткани мозга животных зависит в большей степени от активности γ -амилазы, чем фосфорилазы, так как, если накопление гликогена в ткани мозга животных через 24 ч можно объяснить одновременным понижением активности γ -амилазы и фосфорилазы А, то уменьшение содержания гликогена через 10 мин, вероятно, обусловлено повышением активности γ -амилазы, но никак не пониженным фосфоролизом.

Анализ полученных данных в известной мере объясняет механизм накопления гликогена в мозгу при черепно-мозговой травме.

Ранее нами было показано, что активация нервной деятельности животных, перенесших черепно-мозговую травму, приводит к нормализации имеющихся при этом нарушений сопряженности процессов дыхания и окислительного фосфорилирования [23], способствует восстановлению энергетических ресурсов мозга, нормализует ультраструктуру митохондрий мозга при травме [10] и выравнивает резко подавленную активность митохондриальной МАО [24].

Суммируя указанные данные, можно полагать, что стимуляторы НС оказывают благоприятное воздействие на ряд метаболических процессов мозга на некоторых этапах течения травматической болезни.

CRANIOCEREBRAL INJURY AND BRAIN GLYCOGEN METABOLISM

PROMYSLOV M. Sh., SMIRNOV A. V., AKOPYAN A. S.

Institute of Neurosurgery, USSR Academy of Medical Sciences, Moscow

Elevated brain glycogen and drastic loss of brain γ -amylase activity have been detected in the case of craniocerebral injury. The enzyme activity can be restored by stimulation of CNS of injured animals. On the contrary, inhibitory agents completely abolish its activity and thus lead to a further increase in brain glycogen content.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Coxon R.*—In: Metabolism and function in nervous tissue. Cambridge: Univ. Press, 8, 3—15, 1952.
2. *Cerretelli P., Spinelli D.* Biol. Soc. Ita. Biol. Sperim., 33, 10—12, 1644—1651, 1957.
3. *Holmes E., Holmes B.* Biochem. J., 20, 1196—1203, 1926.
4. *Jakoubec B., Svorad D.* Pflüg. Arch. ges. Physiol., 268, 5, 444—448, 1959.
5. Палладин А. В. Изв. АН СССР, Сер. биол., 5, 11—22, 1956.
6. *Watanabe H., Passonneau J. V.* Brain. Res., 66, 147—159, 1974.
7. *Ibrahim M. L. M., Paskoe E., Alam S., Miguel J.* Am. J. Pathol., 60, 403—415, 1970.
8. *Nelson S. R., Schulltz P. W., Passonneau J. V., Sowry O. H.* J. Neurochem., 15, 1271—1273, 1968.
9. Промыслов М. Ш., Тигранян Р. А. Вопросы мед. химии, 10, 611—614, 1964.
10. Тигранян Р. А., Смирнов А. В. Ж. exper. и клин. мед., 9, 20—24, 1969.
11. *Hers H. J.* Advances in metabolic. Ed Levin.—N. Y.: Acad. Press, 1, 1—44, 1964.
12. *Fiske C. H., Subarrow J. J.* Biol. Chem., 66, 375, 1925.
13. *Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J.* J. Biol. Chem., 193, 1, 265—275, 1951.
14. *Perry M. M.* J. Cell. Sci., 2, 257—264, 1967.
15. *Shinji Y., Shinji E., Mizuhira Y.* Incl. Acta Histochem. Cytochem., 8, 2, 139—149, 1975.
16. *Themann H. J.* Ultrastr. Res., 4, 401—412, 1960.
17. *Hers H. A.* Biochem. J., 86, 11—16, 1963.
18. *Lundgren P. R., Miquel J. J.* Neurochem, 17, 1383—1386, 1970.
19. *Zivkovic R. V., Mrsulja B. B., Djuricic B. M.* Experientia, 31, 404—406, 1975.
20. Промыслов М. Ш., Тигранян Р. А. Вопросы биохимии мозга, 3, 163—175, Ереван, Изд-во АН АрмССР, 1967.
21. Промыслов М. Ш., Тигранян Р. А. Ж. exper. и клин. мед., 5, 3, 20—22, 1965.
22. Манина А. А. Ультраструктурные изменения и репаративные процессы в центральной нервной системе при различных воздействиях, Л., Медицина, 126 с. 1971.
23. Промыслов М. Ш., Баскаева Т. С. Бюл. exper. биол. и мед., 2, 38—39, 1975.
24. Промыслов М. Ш., Тигранян Р. А.—В кн.: Тяжелая черепно-мозговая травма, М., с. 51—59, 1969.

Институт нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко
АМН СССР, Москва

Поступила 24.II 1982

УДК 616—001.16:591.104+576.311.347+616.831

ВЛИЯНИЕ ПЕРЕГРЕВАНИЯ И ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ИОНОЛА НА ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В МИТОХОНДРИЯХ МОЗГА КРЫС

ШАРОВ А. Н., КОЗЛОВ Н. Б.

Наблюдается снижение показателей окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга крыс при нагревании до теплового удара и особенно в постгиперtermическом предагональном состоянии. Предварительное введение ионола нормализует состояние окислительного фосфорилирования при действии высокой внешней температуры.

В работах многих исследователей показаны значительные нарушения белкового, углеводного и липидного обменов в условиях перегревания организма [1—4]. В то же время вопрос об изменении энергетического обмена в этих же условиях во многом еще не выяснен. Существующие данные довольно малочисленны, освещают лишь тот или иной аспект этой проблемы и трудно сопоставимы друг с другом, так как в проведенных экспериментах применялись тепловые нагрузки разной продолжительности и интенсивности [5]. Крайне недостаточно исследовано изменение энергетического обмена в ткани мозга, хотя известно, что ЦНС одной из первых реагирует на действие высокой внешней температуры [6, 7].

В предыдущих сообщениях [8, 9] содержались данные об изменении уровня АТФ, АДФ, АМР и активности АТФазы в ткани мозга крыс при действии высокой внешней температуры. В настоящей работе приводятся сведения о состоянии окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга крыс при перегревании и предварительном введении ионола—антиоксиданта, повышающего устойчивость организма к действию высокой внешней температуры [2, 4].

Материалы и методы

Опыты проводились на белых беспородных крысах обоего пола массой 150—200 г. Перегревание животных осуществлялось в термостате при температуре 45° и относительной влажности 30—40%. Ионол (3,5-дитретичный бутил, 4-окситолуол) вводили перорально через зонд в виде 1% раствора в рафинированном подсолнечном масле в дозе 100 мг на 1 кг массы за 18 ч до перегревания. Выделение митохондрий

производили методом дифференциального центрифугирования в среде, содержащей 0,25 М сахарозу, 0,0001 М ЭДТА и 0,01 М трис-буфер (pH 7,4). Осадок митохондрий мозга однократно промывали средой выделения. Инкубационная среда pH 7,4 содержала в мМ: глутаминовой кислоты—3 или янтарной кислоты—3; сахарозы—200; KCl—20; фосфата калия—5; ЭДТА—0,4; трис-HCl буфера—10. Скорость дыхания в разных состояниях митохондрий определяли полярографически, используя закрытый электрод типа Кларка. В ячейку со средой инкубации последовательно добавляли суспензию митохондрий, ADP (до конечной концентрации 174 мкМ), 2,4-динитрофенол (ДНФ) (до конечной концентрации 20 мкМ). Из данных полярограммы рассчитывали начальную скорость дыхания (V_0), дыхательный контроль по Lardy, Wellman (DK_n), дыхательный контроль по Chance, Williams (DK_w), коэффициент ADP/O, стимуляцию дыхания 2,4-ДНФ и скорость фосфорилирования. добавки ADP (ADP/t [10, 11]. V_0 выражали в нмоль кислорода /мин/мг белка; ADP/t —в нмоль ADP/мин/мг белка. Белок определяли по методу Lowry [12]. Полярографические исследования проводили при температуре среды 27°.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены данные о состоянии окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга при перегревании крыс, а также в постгипертермическом периоде. Перегревание животных до состояния теплового удара (серия 2) приводило к значительному снижению коэффициента ADP/O и уменьшению скорости фосфорилирования ADP/t . Если в контроле митохондрии фосфорилировали добавленную ADP со скоростью 86,06 нмоль/мин/мг белка (при использовании в качестве субстрата окисления глутаминовой кислоты), то к моменту развития теплового удара этот показатель снижался до 60,7 нмоль/мин/мг белка. Аналогичные изменения ADP/O и ADP/t наблюдались и в опытах с применением в качестве субстрата окисления янтарной кислоты.

В литературе неоднократно отмечалось, что после взятия из тепловой камеры перегретых до теплового удара животных через некоторое время у них отмечалось кратковременное улучшение состояния—температура тела снижалась до нормальных величин, были выражены рефлексy. некоторые животные могли двигаться, нормализовалась частота дыхания [13, 14]. В таком постгипертермическом состоянии (серия 3) коэффициент ADP/O вновь повышался до уровня контроля, а показатели дыхательных контролей и скорости фосфорилирования (субстрат окисления—глутаминовая кислота) были даже выше контрольных величин.

При дальнейшем пребывании перегретых животных вне тепловой камеры температура тела их продолжала снижаться и вновь наблюдалось ухудшение состояния: отмечались исчезновение болевого и ротовичного рефлексов, изменение частоты дыхания и т. д. [13], вслед

Таблица 1

Состояние окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга крыс
при перегревании

Серия исследований	Глутаминовая кислота						Янтарная кислота					
	V_0 $M \pm m$	ДК _а $M \pm m$	ДК _ч $M \pm m$	ADP/0 $M \pm m$	ДНФ $M \pm m$	ADP/t $M \pm m$	V_0 $M \pm m$	ДК _а $M \pm m$	ДК _ч $M \pm m$	ADP/0 $M \pm m$	ДНФ $M \pm m$	ADP/t $M \pm m$
Контроль (n=7)	11,60 $\pm 0,89$	2,91 $\pm 0,28$	2,74 $\pm 0,29$	2,66 $\pm 0,16$	3,41 $\pm 0,35$	86,06 $\pm 5,98$	37,55 $\pm 5,06$	2,03 $\pm 0,15$	2,35 $\pm 0,11$	2,16 $\pm 0,09$	2,30 $\pm 0,17$	158,71 $\pm 13,36$
Тепловой удар (n=9)	13,01 $\pm 1,12$ $p_1 > 0,05$	2,53 $\pm 0,19$ $p_1 > 0,05$	2,29 $\pm 0,11$ $p_1 > 0,05$	2,03 $\pm 0,14$ $p_1 < 0,01$	3,12 $\pm 0,13$ $p_1 > 0,05$	60,70 $\pm 2,22$ $p_1 < 0,01$	49,06 $\pm 3,77$ $p_1 < 0,05$	1,71 $\pm 0,08$ $p_1 = 0,05$	2,05 $\pm 0,06$ $p_1 < 0,05$	1,52 $\pm 0,07$ $p_1 < 0,001$	2,31 $\pm 0,08$ $p_1 > 0,05$	121,75 $\pm 9,46$ $p_1 < 0,05$
Постгипертермический период (улучшение состояния) (n=7)	11,66 $\pm 1,13$ $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	3,74 $\pm 0,30$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$	3,64 $\pm 0,27$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$	2,96 $\pm 0,14$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$	3,84 $\pm 0,26$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$	125,80 $\pm 4,88$ $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	32,64 $\pm 4,10$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$	2,20 $\pm 0,10$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$	2,66 $\pm 0,10$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$	2,11 $\pm 0,19$ $p_1 > 0,05$ $p_2 = 0,01$	2,45 $\pm 0,09$ $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	146,92 $\pm 13,69$ $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$
Постгипертермический период (предиагональное состояние) (n=7)	14,85 $\pm 1,16$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$	2,07 $\pm 0,15$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,001$	1,95 $\pm 0,09$ $p_1 < 0,02$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,001$	1,61 $\pm 0,07$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,02$ $p_3 < 0,001$	2,19 $\pm 0,14$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	46,61 $\pm 3,82$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,001$	38,55 $\pm 3,11$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,01$	1,54 $\pm 0,08$ $p_1 < 0,02$ $p_2 > 0,05$ $p_3 < 0,001$	1,70 $\pm 0,06$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	1,18 $\pm 0,05$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,001$	1,98 $\pm 0,07$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,001$	84,61 $\pm 8,85$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,02$ $p_3 < 0,01$

Примечание. Здесь и в табл. 2 индекс при p обозначает номер серии, с которой производилось сравнение

за этим наступали агония и гибель животных. Наступление предагонального состояния (серия 4) сопровождалось снижением почти всех показателей окислительного фосфорилирования—дыхательных контролей, ADP/O , ADP/t и стимуляции дыхания ДНФ. Скорость фосфорилирования резко снижалась, несмотря на то, что скорость окисления (V_0) глутаминовой кислоты увеличилась.

В табл. 2 представлены показатели окислительного фосфорилирования в митохондриях головного мозга крыс, которым перед перегреванием вводили ионол. Из приведенных данных видно, что введение ионола животным без последующего перегревания (серия 5) не изменяло состояния окислительного фосфорилирования по сравнению с контролем. Развитие теплового удара у крыс на фоне предварительного введения ионола (серия 6) не сопровождалось снижением показателей окислительного фосфорилирования. Не происходило снижения этих показателей и в постгипертермическом предагональном состоянии (серия 7), более того, наблюдалось увеличение скорости фосфорилирования.

Известно [2, 8], что предварительное введение ионола значительно отделяет момент наступления теплового удара и увеличивает время жизни после взятия из тепловой камеры. Аналогичные результаты наблюдались и в данной работе.

Снижение степени сопряжения окисления с фосфорилированием при одновременном уменьшении количества образующихся молекул АТФ в единицу времени свидетельствовало о значительном нарушении функции митохондрий головного мозга в момент развития теплового удара, а также в постгипертермическом периоде непосредственно перед гибелью животных. Вместе с этим митохондрии мозга не теряли способности осуществлять свободное окисление субстратов. Поглощение кислорода в единицу времени при окислении глутамата и сукцината не изменялось или даже повышалось.

Нарушение процесса окислительного фосфорилирования на высоте гипертермии нельзя, по-видимому, объяснить действием лишь температурного фактора, хотя последнее можно было бы предположить, исходя из липопротендной природы митохондриальных мембран и возможности нарушения фазового состояния липидов. Как было отмечено, через 60—70 мин после взятия животных из тепловой камеры, когда их состояние временно улучшалось, процесс окислительного фосфорилирования нормализовывался. Если температурный фактор являлся причиной нарушения функционального состояния митохондрий, то этот процесс был обратимым.

Привлекает внимание тот факт, что предварительное введение ионола предотвращало нарушение окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга перегреваемых животных. Учитывая антиоксидантное действие ионола, можно полагать, что одной из важнейших причин нарушения окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга при перегревании животных, и особенно в постгипертермическом перио-

Таблица 2

Состояние окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга крыс при перегревании после предварительного введения инола

Серия исследований	Глутаминовая кислота						Янтарная кислота					
	V_0 $M \pm m$	ДК _л $M \pm m$	ДК _ч $M \pm m$	ADP/O $M \pm m$	ДНФ $M \pm m$	ADP/t $M \pm m$	V_0 $M \pm m$	ДК _л $M \pm m$	ДК _ч $M \pm m$	ADP/O $M \pm m$	ДНФ $M \pm m$	ADP/t $M \pm m$
Введение инола без последующего перегревания (n=7)	11,90 $\pm 1,71$ $p_1 > 0,05$	3,11 $\pm 0,47$ $p_1 > 0,05$	3,11 $\pm 0,28$ $p_1 > 0,05$	2,73 $\pm 0,12$ $p_1 > 0,05$	3,64 $\pm 0,26$ $p_1 > 0,05$	91,73 $\pm 4,13$ $p_1 > 0,05$	35,78 $\pm 2,86$ $p_1 > 0,05$	2,07 $\pm 0,14$ $p_1 > 0,05$	2,41 $\pm 0,09$ $p_1 > 0,05$	1,85 $\pm 0,12$ $p_1 > 0,05$	2,56 $\pm 0,07$ $p_1 > 0,05$	132,71 $\pm 5,68$ $p_1 > 0,05$
Тепловой удар (n=7)	15,08 $\pm 0,75$ $p_5 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	2,27 $\pm 0,08$ $p_5 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	2,83 $\pm 0,08$ $p_5 > 0,05$ $p_2 < 0,01$	2,60 $\pm 0,04$ $p_5 > 0,05$ $p_2 < 0,01$	3,35 $\pm 0,28$ $p_5 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	103,07 $\pm 3,55$ $p_5 > 0,05$ $p_2 < 0,001$	37,98 $\pm 2,07$ $p_5 > 0,05$ $p_2 < 0,05$	2,01 $\pm 0,05$ $p_5 > 0,05$ $p_2 < 0,01$	2,39 $\pm 0,09$ $p_5 > 0,05$ $p_2 < 0,01$	1,92 $\pm 0,08$ $p_5 > 0,05$ $p_2 < 0,01$	2,55 $\pm 0,10$ $p_5 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	146,43 $\pm 11,78$ $p_5 > 0,05$ $p_2 > 0,05$
Постгипертермический период (преагональное состояние) (n=7)	12,18 $\pm 1,22$ $p_5 > 0,05$ $p_4 > 0,05$	3,76 $\pm 0,34$ $p_5 > 0,05$ $p_4 < 0,001$	3,26 $\pm 0,34$ $p_5 > 0,05$ $p_4 < 0,01$	2,59 $\pm 0,12$ $p_5 > 0,05$ $p_4 < 0,001$	3,77 $\pm 0,34$ $p_5 > 0,05$ $p_4 < 0,001$	115,12 $\pm 9,95$ $p_5 < 0,05$ $p_4 < 0,001$	39,65 $\pm 3,77$ $p_5 > 0,05$ $p_4 > 0,05$	2,15 $\pm 0,08$ $p_5 > 0,05$ $p_4 < 0,001$	2,39 $\pm 0,14$ $p_5 > 0,05$ $p_4 < 0,001$	1,98 $\pm 0,13$ $p_5 > 0,05$ $p_4 < 0,001$	2,4 $\pm 0,11$ $p_5 > 0,05$ $p_4 < 0,01$	167,51 $\pm 15,99$ $p_5 > 0,05$ $p_4 < 0,001$

де, является перекисное окисление липидов митохондриальных мембран. В мозговой ткани перегретых животных непосредственно перед гибелью наблюдается значительное накопление липидных гидроперекисей [15], что является важным фактором нарушения процесса окислительного фосфорилирования [16].

INFLUENCE OF HYPERTHERMIA ON OXIDATIVE PHOSPHORYLATION IN RAT BRAIN MITOCHONDRIA AND PROTECTIVE EFFECT OF IONOL

SHAROV A. N., KOZLOV N. B.

Chair of Biochemistry, Medical School, Smolensk

A decrease in parameters of oxidative phosphorylation in rat brain mitochondria has been detected on heating the animals to the heat-stroke and especially in post-hyperthermic preagonal state. Preliminary injection of Ionol lowers the sensitivity of this process to the action of high external temperature.

ЛИТЕРАТУРА

1. Козлов Н. Б.—В кн.: Патобиохимия и патогистология перегревания организма (под ред. Н. Б. Козлова), Смоленск, с. 3—13, 1978.
2. Забросаева Л. И.—В кн.: Некоторые вопросы патобиохимии и гистопатологии перегревания (под ред. Н. Б. Козлова), Смоленск, с. 33—41, 1970.
3. Козлов Н. Б., Стунжас Н. М., Аленина Т. В. Биохимия животных и человека, Киев, 4, 22—28, 1980.
4. Шепелев А. П. Вопросы мед. химии, 22, 47—51, 1976.
5. Султанов Ф. Ф. Гипертермия (компенсация и недостаточность) (под ред. А. Х. Бабаевой), Ашхабад, Ылым, 224 с., 1978.
6. Граменицкий Е. М. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии, 44, 6, 54—59, 1963.
7. Цишинатти Н. Т., Левицкая А. В. Клинич. медицина, 38, 12, 87—91, 1960.
8. Козлов Н. Б., Шаров А. Н. Укр. биохим. ж., 52, 696—699, 1980.
9. Шаров А. Н.—В кн.: Новые методы диагностики и лечения (под ред. Н. Б. Козлова), Смоленск, с. 103—106, 1980.
10. Ивков Н. Н., Панченко Л. Ф.—В кн.: Структура и функция биологических мембран (под ред. Ю. А. Владимиров и Л. Ф. Панченко), М., с. 94—103, 1971.
11. Дедухова В. И., Мохова Е. Н. Биол. науки, 4, 129—137, 1971.
12. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
13. Козлов Н. Б. Укр. биохим. ж., 33, 248—252, 1961.
14. Козлов Н. Б.—В кн.: Некоторые вопросы патобиохимии и гистопатологии перегревания (под ред. Н. Б. Козлова), Смоленск, с. 3—7, 1970.
15. Козлов Н. Б., Забросаева Л. И., Лейтман М. Б. Вопросы мед. химии, 26, 130—133, 1980.
16. Владимиров Ю. А., Суслова Т. Б., Оленев В. И.—В кн.: Митохондрии. Транспорт электронов и преобразование энергии, М., Наука, с. 109—125, 1976.

Государственный медицинский институт, Смоленск

Поступила 3.XII 1981

УДК 577.151

ЛОКАЛИЗАЦИЯ И МЕХАНИЗМЫ АТР-ЗАВИСИМОГО ТРАНСПОРТА КАЛЬЦИЯ В ФОТОРЕЦЕПТОРАХ (ПАЛОЧКАХ) СЕТЧАТКИ ПОЗВОНОЧНЫХ

БЕРМАН А. Л., АЗИМОВА А. М.

Исследовали способность различных фрагментов фоторецепторов сетчатки позвоночных—наружных и внутренних сегментов палочек к АТР-зависимому транспорту Ca^{2+} .

При исследовании кинетики АТР-зависимого накопления Ca^{2+} везикулами плазматических мембран фоторецепторов сетчатки позвоночных было установлено, что в присутствии АТР фрагменты мембран внутренних сегментов накапливали около 20 нмоль Ca^{2+} /мг белка; в то время как фрагменты мембран наружных сегментов такой способностью не обладали. Сделан вывод, что АТР-зависимый транспорт Ca^{2+} локализован в плазматических мембранах внутреннего сегмента палочки и отсутствует в фоторецепторных мембранах дисков наружных сегментов.

В присутствии ионов натрия и калия АТР-зависимое накопление Ca^{2+} фрагментами внутреннего сегмента подавлялось в присутствии строфантина, ингибитора Na^+ , K^+ -АТРазы. На основании полученных данных предполагается, что активный транспорт Ca^{2+} плазматическими мембранами внутреннего сегмента обеспечивается работой Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТРазы, а также в присутствии ионов натрия и калия путем $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обмена.

Некоторые исследователи полагают, что Ca^{2+} играет роль внутриклеточного медиатора в механизме возбуждения фоторецептора сетчатки позвоночных, в частности, передает возбуждение от поглотившей квант света молекулы родопсина, расположенного в мембранах дисков наружного сегмента палочки (НСП), на ионные каналы, локализованные в наружной плазматической мембране (ПМ) фоторецептора [1, 2]. В этой так называемой «кальцевой» гипотезе о механизме возбуждения фоторецептора позвоночных постулируется, что в мембранах дисков НСП должна быть локализована кальцевая помпа, которая поддерживает градиент Ca^{2+} на фоторецепторной мембране дисков НСП [1, 2]. В то же время результаты экспериментальных исследований, посвященных изучению системы активного транспорта кальция во фракции фоторецепторных мембран (ФМ) дисков НСП, крайне противоречивы [3—9]: одни исследователи находят во фракции НСП активность Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТРазы [3, 4], которая, как предполагают, обуславливает активное накопление Ca^{2+} мембранами дисков НСП, а также наблюдают во фракции НСП способность в присутствии АТР накапливать кальций [5—8], другие исследователи находят, что

Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТРаза локализована в палочках сетчатки в ПМ внутреннего сегмента и отсутствует в ФМ дисков [9].

В настоящей работе проведено сравнение способности различных фракций ПМ фоторецепторов сетчатки позвоночных—НСП и ВСП (внутренних сегментов палочек) к АТР-зависимому накоплению кальция, а также изучены особенности системы его активного транспорта в палочках сетчатки. Мы полагали, что таким образом можно будет более однозначно ответить на вопрос, в какой же части фоторецептора (в области внутреннего или наружного сегментов) локализован кальциевый насос и охарактеризовать некоторые свойства Ca^{2+} -транспортирующей системы ПМ фоторецепторов.

Материалы и методы

Исследования проведены на двух субфракциях ПМ палочек сетчатки быка: фракции НСП, в мембранах которой преимущественно содержится родопсин, и фракции ВСП, в которых преимущественно локализована Na^{+} , K^{+} -АТРаза [9, 10]. Фракции НСП и ВСП выделяли по методу, описанному нами ранее [9, 10]. Определение белка производили по модифицированному биуретовому методу [11]. О принадлежности различных субфракций ПМ фоторецептора сетчатки к НСП или ВСП судили по биохимическим маркерам: для фракции НСП таким маркером являлся родопсин, а для фракции ВСП— Na^{+} , K^{+} -АТРаза и сукцинатдегидрогеназа [10].

Опыты по изучению АТР-зависимого накопления Ca^{2+} проводили на вывернутых везикулах ПМ фоторецептора, полученных обработкой фракций ВСП и НСП гипотоническим шоком в 6 мМ трис-НСI буфере pH 7,4 в течение 10 мин при $+4^{\circ}$ [12]. Для изучения АТР-зависимого накопления Ca^{2+} применяли инкубационную среду, содержащую: 20 мМ трис-НСI буфера (pH 7,4), 2 мМ $MgCl_2$, 5×10^{-5} М $CaCl_2$ (0,6 мкК_в ^{45}Ca), 2 мМ АТР и 100—200 мкг белка. Объем инкубационной среды составлял 5 мл. Количество адсорбированного кальция определяли в такой же среде, но при 0° или в отсутствие АТР. АТР-зависимое накопление Ca^{2+} определяли как разность между общим накоплением Ca^{2+} в присутствии АТР при 30° в течение 15 мин и адсорбированным кальцием за тот же промежуток времени.

Для изучения Na^{+}/Ca^{2+} обмена в инкубационную смесь добавляли 100 мМ NaCl и 10 мМ KCl. В этом случае АТР-зависимое накопление Ca^{2+} определяли как разность между общим накоплением Ca^{2+} в присутствии АТР без строфантина „K“ и при наличии этого ингибитора Na^{+} , K^{+} -АТРаза в инкубационной среде (0,2 мМ).

Фракцию НСП или ВСП вносили в инкубационную смесь, прогретую до 30° , пробы (100—200 мкг белка) инкубировали при 30° в течение 1, 5, 10 и 15 мин, после чего суспензию фильтровали через мембранные фильтры (размер пор 0,45—0,6 мкм) и промывали один раз охлажденным до $+4^{\circ}$ раствором 20 мМ трис-НСI буфера (pH 7,4). Ко-

личество накопленного кальция выражали в нмоль/мг белка. Фракции НСП и ВСП хранили в жидком азоте.

Результаты и обсуждение

Возможность образования в определенных условиях замкнутых, вывернутых наизнанку везикул из фрагментов ПМ нервной ткани [12], способных накапливать Ca^{2+} в присутствии АТР, позволила нам исследовать АТР-зависимый транспорт Ca^{2+} во фракциях НСП и ВСП.

Исследование влияния концентрации Ca^{2+} на АТР-зависимое накопление этого катиона фрагментами плазматических мембран ВСП фоторецепторов показало, что по мере возрастания концентрации кальция происходило увеличение АТР-зависимого накопления Ca^{2+} , причем максимального значения АТР-зависимое накопление катиона достигало при концентрации Ca^{2+} , равной 50 мкМ; при дальнейшем повышении концентрации катиона АТР-зависимое накопление Ca^{2+} уменьшалось (рис. 1). В то же время АТР-зависимое накопление Ca^{2+}

отсутствовало во фракции фрагментов ПМ НСП: небольшой концентрационный максимум АТР-зависимого накопления Ca^{2+} во фракции НСП был статистически недостоверен, составлял менее 2% от того

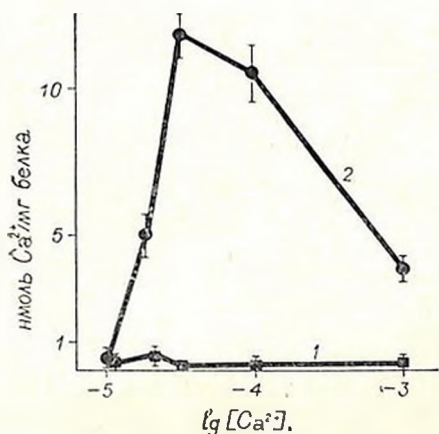


Рис. 1. Влияние концентрации Ca^{2+} на АТР-зависимое накопление Ca^{2+} фракциями НСП и ВСП сетчатки. По оси абсцисс—концентрация Ca^{2+} (М в логарифмическом масштабе); по оси ординат—АТР-зависимое накопление Ca^{2+} фракциями НСП (1) и ВСП (2) сетчатки. Среда инкубации: 20 мМ трис-буфера (рН 7,4) 2 мМ MgCl_2 , 2 мМ АТР, инкубация—15 мин при 30°

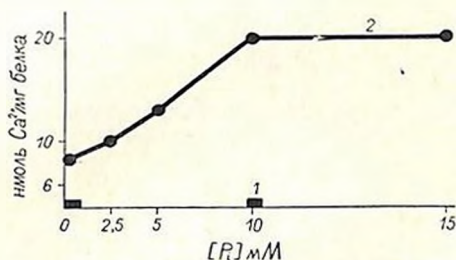


Рис. 2. Влияние концентрации P_i на АТР-зависимое накопление Ca^{2+} мембранами НСП (1) и ВСП (2) сетчатки. Среда инкубации: 20 мМ трис-буфера (рН 7,4) 2 мМ MgCl_2 , 2 мМ АТР, 5×10^{-5} CaCl_2

количества катиона, которое адсорбировалось мембранами НСП в отсутствие АТР (рис. 1), и мог быть обусловлен незначительной примесью фрагментов ВСП во фракции НСП.

Чтобы убедиться, что наблюдавшееся увеличение содержания Ca^{2+} во фракции ВСП в присутствии АТР было обусловлено накоп-

лением катиона внутри замкнутых мембранных везикул, в следующей серии опытов исследовали влияние различных концентраций P_i на величину АТР-зависимого накопления Ca^{2+} (рис. 2). Оказалось, что для фракции ВСП с увеличением концентрации P_i АТР-зависимое накопление Ca^{2+} увеличивалось, в то время как во фракции НСП никакого АТР-зависимого накопления Ca^{2+} не наблюдали независимо от присутствия или отсутствия P_i в среде инкубации (рис. 2). Таким образом, наблюдавшаяся нами зависимость накопления Ca^{2+} в присутствии АТР фракцией ВСП от концентрации P_i (рис. 2) свидетельствует, по-видимому, о том, что увеличение концентрации кальция во фракции ВСП в присутствии АТР было обусловлено накоплением катиона в замкнутых мембранных везикулах.

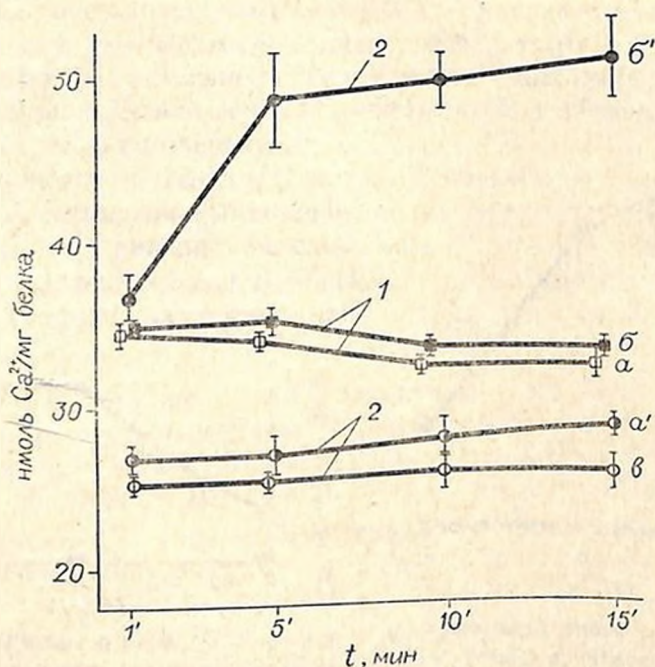


Рис. 3. Кинетика адсорбции и АТР-зависимого накопления Ca^{2+} фракциями НСП (1) и ВСП (2) сетчатки: а, а' — в отсутствие АТР при 30°; б, б' — в присутствии АТР при 30°; в — в присутствии АТР при 0°. Среда инкубации та же, что и на рис. 2, концентрация P_i — 10 мМ

При исследовании кинетики АТР-зависимого накопления Ca^{2+} везикулами, образованными из фрагментов мембран НСП или ВСП, было установлено, что в присутствии АТР фрагменты мембран ВСП накапливают в течение 5 мин около 20 нмоль Ca^{2+} /мг белка, в то время как фрагменты мембран НСП не накапливают Ca^{2+} в этих же условиях (точнее, это накопление Ca^{2+} для фрагментов фракции НСП составляло менее 0,5 нмоль Ca^{2+} /мг белка (рис. 3) и могло быть обусловлено незначительной, менее 3%, примесью мембран ВСП). Наблюдавшееся нами АТР-зависимое накопление Ca^{2+} мембранными фраг-

ментами фракции ВСП не было обусловлено митохондриями ВСП, так как олигомицин (ингибитор митохондриальной АТФазы) не подавлял АТФ-зависимое накопление Ca^{2+} фрагментами ВСП (рис. 4).

Сопоставляя результаты настоящей работы (рис. 1—4) с ранее полученными данными о наличии Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы во фракции ВСП и отсутствии этого фермента во фракции мембран НСП [9], можно заключить, что замкнутые везикулы, образованные из фрагментов ПМ ВСП, обладают способностью в присутствии АТФ и Mg^{2+} накапливать Ca^{2+} в результате работы Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы. Фоторецепторные мембраны дисков фракции НСП, согласно полученным результатам, такой способностью накапливать Ca^{2+} в присутствии АТФ не обладают. Можно предположить, что наблюдавшаяся другими авторами способность фракции НСП активно накапливать Ca^{2+} в присутствии АТФ [5—8] могла быть обусловлена незначительной примесью во фракции фрагментов ВСП.

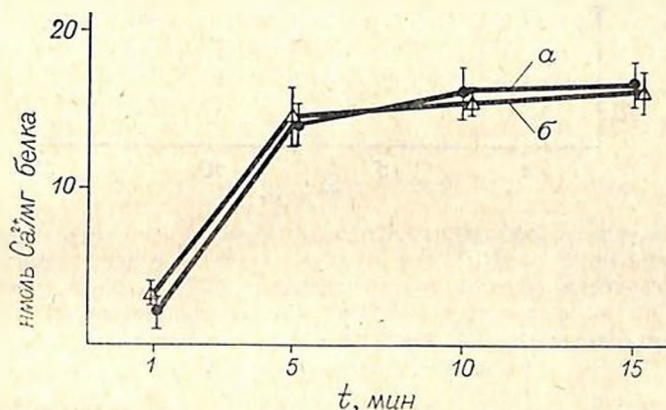


Рис. 4. Влияние олигомицина на АТФ-зависимое накопление Ca^{2+} фрагментами мембран фракции ВСП сетчатки: а — инкубация без олигомицина, б — инкубация в присутствии олигомицина. Среда инкубации та же, что на рис. 2

Особый интерес представляют результаты, которые свидетельствуют о том, что во фрагментах ВСП, помимо Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы, по-видимому, имеется и другой механизм транспорта Ca^{2+} , так называемый $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменный механизм накопления Ca^{2+} [12, 13]. Как видно из результатов, представленных на рис. 5, в присутствии Na^+ и K^+ АТФ-зависимое накопление Ca^{2+} фрагментами мембран ВСП полностью подавлялось строфантином „К“ (0,2 мМ) — специфическим ингибитором Na^+ , K^+ -АТФазы.

Как известно, фракция ВСП обладает высокой активностью Na^+ , K^+ -АТФазы [9, 10]. В присутствии АТФ, Mg^{2+} , а также Na^+ и K^+ , натриевый насос создает и поддерживает градиент концентрации Na^+ на замкнутых везикулах, образованных из ПМ ВСП; возможно, что энергия, заключенная в этом градиенте, используется для накопления

Ca^{2+} внутри везикул. Подобный механизм сопряженного АТР-зависимого транспорта Ca^{2+} в замкнутые везикулы ПМ был описан ранее для других тканей [14, 15],

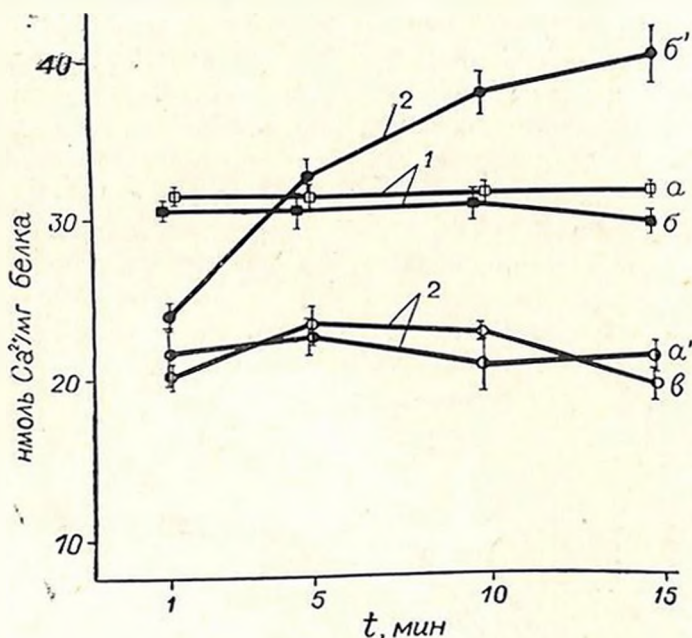


Рис. 5. Влияние строфантинина K^+ на АТР-зависимое накопление Ca^{2+} везикулами мембран НСП (1) и ВСП (2) сетчатки в присутствии Na^+ и K^+ ; α, α'—среда инкубации не содержит АТР; β, β'—в присутствии 2 мМ АТР; β—в присутствии АТР (2 мМ) и строфантинина K^+ (0,2 мМ). Среда инкубации: 100 мМ NaCl , 10 мМ KCl , в остальном так же, как на рис. 2, температура 30°

Таким образом, полученные нами данные позволяют заключить, что в палочках сетчатки позвоночных АТР-зависимый транспорт Ca^{2+} локализован в ПМ внутреннего сегмента фоторецептора и отсутствует в мембранах дисков НСП. Можно также предположить, что в ВСП сетчатки АТР-зависимый транспорт Ca^{2+} может поддерживаться двумя различными механизмами: за счет работы Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТРазы и, кроме того, путем $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменного механизма.

LOCALIZATION AND MECHANISMS OF ATP-DEPENDENT TRANSPORT OF CALCIUM IN RETINAL RODS OF VERTEBRATES

BERMAN A. L., AZIMOVA A. M.

Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry USSR Academy of Sciences, Leningrad

The ability of outer and inner segments of retinal rods (ROS and RIS) to the ATP-dependent transport of Ca^{2+} has been studied. The turned inside out, closed vesicles obtained from plasmic membranes of ROS

and RIS fractions were incubated at 30° or 0° in the presence of 2 mM ATP, Ca^{2+} , 2 mM MgCl_2 to which 100 mM NaCl, 10 mM KCl and inorganic phosphate were added if needed.

A study of kinetics of ATP-dependent accumulation of Ca^{2+} by the vesicles has shown that the RIS-vesicles accumulated about 20 nmoles of Ca^{2+} per mg of protein in the presence of ATP, whereas ROS-vesicles were incapable of ATP-dependent Ca^{2+} accumulation.

It has been demonstrated that the ATP-dependent Ca^{2+} accumulation by RIS-vesicles, most likely, takes place due to activity of the RIS Mg^{2+} , Ca^{2+} -ATPase when Na^+ and K^+ were absent and due to Na^+/K^+ exchange when Na^+ and K^+ were present in the incubation medium. It is concluded that ATP-dependent transport of Ca^{2+} is localized in the RIS plasmic membranes but not in those of ROS.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Hagins W. A. Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 1, 131—153, 1972.
2. Hagins W. A., Yoshikami S. Exp. Eye Res., 18, 299—305, 1974.
3. Sack R. A., Harris C. H. Nature, 265, 465—466, 1977.
4. Ostwald T. J., Heller J. Biochemistry, 11, 4679—4685, 1972.
5. Hemminki K. Acta Physiol. Scand., 95, 117—125, 1975.
6. Neufeld A. H., Miller W. H., Bitensky M. W. Biochim. Biophys. Acta, 266, 67—71, 1972.
7. Schnetkamp P. P. M., Daemen F. J. M., Bonting S. L. Biochim. Biophys. Acta, 468, 259—270, 1977.
8. Miki N., Kuo Che-Hui, Hayashi Y., Akiyama M. Photochemistry and Photobiology, 32, 503—508, 1980.
9. Berman A. L., Azimova A. M., Gribakin F. G. Vision Res., 17, 527—536, 1977.
10. Берман А. Л. Биохимия, 40, 659—662, 1975.
11. Берман А. Л., Чирковская Е. В. Ж. эвол. биох. и физиол., 10, 566—576, 1974.
12. Лушко В. К. Биохимия, 40, 538—544, 1975.
13. Blaustein M. P. Rev. Physiol. Biochem. Exp. Pharmacol., 70, 33—38, 1974.
14. Ichida S., Hata F., Matsuda T., Yoshida H. Jap. J. Pharmacol., 26, 31—37, 1976.
15. Reuter H., Seitz N. J. Physiol., 195, 451—455, 1968.

Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И. М. Сеченова АН СССР,
Ленинград

Поступила 16.XI 1981

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.158.47:612.822.1.015.1:612.273

АКТИВНОСТЬ И СУБСТРАТНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ
МОНОАМИНООКСИДАЗ МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИГОРОШИНСКАЯ И. А., БРОНОВИЦКАЯ З. Г., КРИЧЕВСКАЯ А. А.,
КАРАБУХИНА Е. Г.

В предыдущих исследованиях установлено, что при острой кислородной интоксикации и в условиях холодового стресса имеет место изменение субстратной специфичности митохондриальной МАО [моноамин: кислород-оксидоредуктаза (дезаминирующая), КФ 1.4.3.4]. Оно проявляется в снижении интенсивности деаминации моноаминов и в появлении способности деаминировать глюкозамин, АМР, путресцин, ГАМК, в норме не являющиеся субстратами фермента [1, 2]. Подобные качественные изменения каталитических свойств МАО характерны также для лучевого поражения, злокачественного роста, гипервитаминоза D_2 и ряда других состояний [3, 4]. Снижение активности МАО в тканях животных и человека при гипоксических состояниях разной этнологии [5—8] ставит вопрос о субстратной специфичности фермента при гипоксии. Целью работы явилось изучение активности и субстратной специфичности МАО типов А и Б в митохондриальной фракции мозга крыс при гипоксической гипоксии.

Работа была проведена на беспородных белых крысах обоего пола массой 150—180 г. Гипоксическую гипоксию вызывали, помещая животных на 1 ч в барокамеру, и создавали атмосферное давление 29 ГПа, что соответствует «подъему» на высоту 9000 м. Скорость декомпрессии— 5 ГПа в мин. Митохондрии выделяли дифференциальным центрифугированием [9]. Активность МАО А определяли с субстратами серотонином и норадреналином, активность МАО Б—с субстратом п-нитрофенилэтиламином. Исследовали также интенсивность деаминации глюкозамина, АМР и путресцина, в норме не являющихся субстратами МАО. О деаминации серотонина, норадреналина, АМР, глюкозамина и путресцина судили по освобождению аммиака в ходе 30-минутной инкубации в воздушной среде при $37,5^\circ$ и pH 7,45 суспензии митохондрий с одним из субстратов в насыщающей концентрации. Содержание аммиака определяли фенол-гипохлоритным методом после изотермической отгонки [10]. При использовании в качестве субстрата

п-нитрофенилэтиламина об активности МАО судили по интенсивности окраски, развивавшейся в результате конденсации образовавшегося под действием фермента альдегида с избытком субстрата [9]. Белок определяли модифицированным методом Lowry [11]. При исследовании влияния ингибиторов МАО хлоргиллина и депренила суспензию митохондрий пренникубировали с одним из ингибиторов в течение 15 мин при 20°. Ингибиторы использовали в концентрации 10^{-6} М, при которой они обладают максимально избирательным действием [12].

Как видно из таблицы, при гипоксии наблюдалось снижение активности МАО с субстратами—серотонином и норадреналином на 22 и 29% соответственно. В 3-х опытах из 15 имело место 100% ингибирование активности фермента с норадреналином. Параллельно снижению активности МАО типа А при гипоксии отмечалось увеличение интенсивности дезаминирования веществ, в норме не являвшихся субстратами МАО. Дезаминирование глюкозамина возрастало на 203, АМР—на 94, путресцина—на 122%. Активность МАО типа Б при гипоксии достоверно не изменялась.

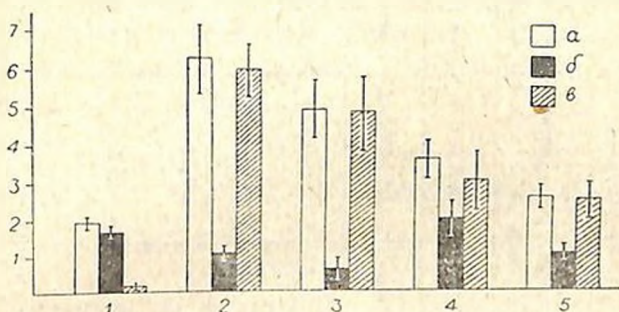


Рис. Влияние ингибиторов МАО на дезаминирование некоторых азотистых соединений митохондриями мозга при гипоксии: а—без ингибитора, б—влияние хлоргиллина, в—влияние депренила; 1—дезаминирование п-нитрофенилэтиламина, 2—серотонина, 3—глюкозамина, 4—АМР, 5—путресцина; по оси ординат—интенсивность дезаминирования (в нмоль азота аммиака/мг белка/мин)

Полученные данные о снижении активности МАО А и усилении интенсивности дезаминирования необычных субстратов позволили предположить, что при гипоксии изменяется субстратная специфичность МАО. Для проверки данного предположения исследовали влияние пренникубации фермента со специфичными для МАО ингибиторами: МАО А—хлоргиллином, МАО Б—депренилом [13].

Как видно из рисунка, хлоргиллин, снижавший на 83% активность МАО А и достоверно не изменявший активность МАО Б, предотвращал усиление дезаминирования при гипоксии глюкозамина, АМР и путресцина. Депренил, тормозивший на 89% активность МАО Б, не влиял на активность МАО А и на интенсивность дезаминирования необычных субстратов. Следовательно, усиление дезаминирования глюкозамина, АМР и путресцина при гипоксии обусловлено изменением субстратной специфичности МАО типа А.

Таблица

Дезаминирование некоторых азотистых соединений митохондриями мозга крыс в
норме и при гипоксии (в нмоль азота аммиака/мг белка/мин), $M \pm m$

Условия опыта	С у б с т р а т ы д е з а м и н и р о в а н и я					
	п-нитрофенил- этиламин	серотонин	норадреналин	глюкозамин	АМР	путресцин
Контроль	$1,589 \pm 0,124$ (10)	$8,420 \pm 0,536$ (11)	$6,633 \pm 0,634$ (11)	$0,990 \pm 0,428$ (9)	$2,343 \pm 0,946$ (9)	$0,748 \pm 0,295$ (9)
Гипоксия (900 м, 1 ч) р	$1,413 \pm 0,126$ (14) >0,05	$6,526 \pm 0,662$ (15) <0,05	$4,685 \pm 0,673$ (15) <0,05	$3,001 \pm 0,372$ (13) <0,01	$4,553 \pm 0,506$ (15) <0,05	$1,660 \pm 0,274$ (11) <0,05
% изменения к контролю		-22%	-29%	+203%	+94%	+122%

Примечание. В скобках указано число опытов

Изменение каталитических свойств МАО А, но не МАО Б, обнаружено также при пилероксии [14], холодовом стрессе [2] и ряде других условий, способствующих трансформации [4].

Полагают, что трансформация МАО является результатом окисления ряда сульфгидрильных групп фермента липидными перекисями [3, 4]. Поскольку при гипоксии также имеет место усиление перекисного окисления липидов, связанное, очевидно, с накоплением ионов двухвалентного железа [15], аналогичное объяснение может быть принято и в данном случае. Нельзя исключить также влияние на фермент изменения при гипоксии структуры и проницаемости мембран. Модификация свойств МАО, в частности приобретение ею способности дезаминировать глюкозамин, являющийся компонентом мембран, может способствовать дальнейшему нарушению мембранных структур при гипоксии.

Снижение активности МАО типа А при отсутствии изменений в активности МАО типа Б подчеркивает роль серотонин- и норадреналинергических медиаторных систем в реакции организма на гипоксию. Изменение свойств МАО при гипоксии неспецифично и выражает, по-видимому, стандартную реакцию на резко изменившиеся условия среды, влияющие на свойства мембран.

EFFECT OF HYPOXIA ON THE ACTIVITY AND SUBSTRATE SPECIFICITY OF RAT BRAIN MONOAMINE OXIDASES

GOROSHINSKAYA I. A., BRONOVIZKAYA Z. G., KRICHEVSKAYA A. A.,
KARABUHINA E. G.

Research Institute of Biology and Chair of Biochemistry State University,
Rostov-on-Don

Hypoxic hypoxia (9000 m, 1 h) leads to a decrease in the activity of type A monoamine oxidase (MAO) with serotonin and noradrenaline as substrates. However, the rate of deamination of glucosamine, AMP and putrescine in brain mitochondria increases. Tests with selective inhibitors of MAO indicate that the latter effect is due to a change in the substrate affinity of type A MAO. The activity of type B MAO was not affected by hypoxia.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Горошинская И. А., Бронуицкая З. Г. Вопросы мед. химии, 22, 558—562, 1976.
2. Горошинская И. А., Кричевская А. А., Бронуицкая З. Г. Бюл. экспер. биол. и мед., 91, 431—433, 1981.
3. Горкин В. З. Вопросы мед. химии, 17, 118—136, 1972.
4. Горкин В. З. Химико-фармацевтический ж., 11, 6—13, 1977.
5. Хватова Е. М., Шуматова Е. Н., Рубанова Н. А., Ваулина В. А.—В кн.: Митохондрии, 176—180, М., Наука, 1972.
6. Brown R. M., Kehr W., Carlsson A. Brain Res., 85, 491—509, 1975.
7. Carlsson A.—In: Proc. Eur. Soc. Neurochem. 2nd Meet. ESN. Göttingen, 1978, 266—270, Weinheim—New York, 1978.
8. Hedner T., Lundborg P. Neurosci Lett., 19, 3, 315—318, 1980.

9. Москвитина Т. А.—В кн.: Современные методы в биохимии (под ред. В. Н. Ореховича), М., Медицина, с. 22—26, 1977.
10. Горкин В. З., Вережкина И. В., Гриднева Л. И., Жердева Л. В. (Брусова), Кляшторин Л. Б., Кривченкова Р. С., Комиссарова Н. В., Леонтьева Г. А., Романова Л. А., Северина И. Б., Фейгина С. М.—В кн.: Современные методы в биохимии (под ред. В. Н. Ореховича), М., Медицина, с. 155—177, 1968.
11. Schacterle G. R., Pollack R. L. Anal. Biochem., 51, 2, 654—655, 1973.
12. Yang H. Y., Neff N. A. J. Pharmacol. and Exp. Ther., 187, 2, 365—371, 1973.
13. Горкин В. З. Аминооксидазы и их значение в медицине, М., Медицина, 336 с., 1981.
14. Goroshinskaya I. A., Bronovitskaya Z. G., Gorkin V. Z. Communications in Psychopharmacology, 1, 39—47, 1977.
15. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах, М., Наука, с. 206—207, 1972.

НИИ биологии при РГУ,
кафедра биохимии РГУ

Поступила 5.I 1982

УДК 577.152:616.47

ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ АМР И АДЕНОЗИНА В ХРОМАФФИННОЙ ТКАНИ

АРУТЮНЯН А. В., КОЧАРЯН М. Г.

Деаминация адениловых соединений в животном организме осуществляется при участии АМРдеаминазы (АМРаминогидролаза КФ 3.5.4.6) и аденозиндеаминазы (аденозинаминогидролаза КФ 3.5.4.4). Наиболее высокой активностью АМРдеаминазы обладают скелетные мышцы, затем диафрагма, сердечная мышца, мозг, почки и печень [1, 2]. Аденозиндеаминазная активность, напротив, отсутствует в скелетных мышцах и проявляется главным образом в тканях, обладающих низкой активностью АМРдеаминазы [3].

Недавно было установлено, что в синаптической фракции мозга АМРдеаминаза способна связываться с сократительным актомиозиноподобным белком, так называемым нейростенином [4]. Исходя из этого, нами была изучена АМРдеаминазная активность в надпочечниках, а также в выделенных из их мозгового слоя хромаффинных гранулах (ХГ), в которых были обнаружены сократительные белки актомиозинового типа [5—7].

В опытах использовали надпочечники быка. Из их коркового и мозгового слоев были приготовлены 20% гомогенаты на 0,05 М калий-фосфатном буфере pH 6,5 и выделены фракции центрифугированием в течение 30 мин при 23 000 g, в которых определяли АМР- и аденозиндеаминазную активность, как описано ранее [8]. ХГ выделяли из мозгового слоя надпочечников по методу Hoffman и соавт. [9]. 1,5—2 г пасты ХГ растворяли в 200 мл 0,05 М калий-фосфатного буфера и 0,5 мл взвеси использовали в качестве источника фермента, что соответствовало 1—1,2 мг белка.

Как видно из данных, приведенных в табл. 1, во фракциях коркового и мозгового слоев надпочечников происходит интенсивное деаминарование аденозина, причем продукция аммиака из аденозина в мозговом слое на 20% выше, чем в корковом. Полученные результаты свидетельствуют о наличии в надпочечниках аденозиндеаминазы, которая в условиях эксперимента обеспечивает деаминарование 80% добавленного аденозина в корковом слое и почти полное его деаминарование в мозговом слое. Наряду с этим из АМР по сравнению с аденозином образовалось гораздо меньше аммиака как в корковом, так и

мозговом слое надпочечников. Однако при добавлении ADP, и особенно ATP, образование аммиака в мозговом слое резко возрастало. Как показали исследования, ADP и ATP сами по себе не продуцируют аммиака, что, по всей вероятности, связано с подавлением процессов их дефосфорилирования под влиянием фосфата, который содержится в применяемой в качестве источника фермента фракции.

Таблица 1

Дезаминирование AMP и аденозина (в мкмоль NH_3 /мл инкубационной среды) в надпочечниках быка

Условия опыта	Мозговой слой	Корковый слой
AMP	$1,78 \pm 0,40$	$0,85 \pm 0,04$
AMP+ATP	$4,96 \pm 0,63$	$1,25 \pm 0,15$
AMP+ADP	$3,77 \pm 0,40$	$1,62 \pm 0,07$
Аденозин	$4,78 \pm 0,60$	$3,99 \pm 0,22$

Примечание. AMP и аденозин добавлены в концентрации 5 мкмоль/мл, а ADP и ATP—2 мкмоль/мл. Концентрация белка—9,5—11 мг/мл. Представлены данные 6 опытов

Таблица 2

Активность AMPдезаминазы и аденозиндезаминазы (в мкмоль NH_3 /мг белка) в мозговом слое и ХГ надпочечников

Условия опыта	Мозговой слой	ХГ
AMP	$0,20 \pm 0,05$	$0,65 \pm 0,08$
AMP+ATP	$0,60 \pm 0,06$	$3,20 \pm 0,22$
AMP+ADP	$0,40 \pm 0,03$	$2,40 \pm 0,18$
Аденозин	$0,53 \pm 0,06$	$0,60 \pm 0,06$

Примечание. Условия опыта те же, что и в табл. 1. Концентрация белка ХГ равна 1—1,2 мг. Представлены данные 6 опытов

Усиление дезаминирования AMP в присутствии ADP и ATP в мозговом слое надпочечников обусловлено действием AMPдезаминазы, аллостерическими эффекторами которой, как известно, в ряде тканей (мозг, почки, скелетные мышцы и т. д.) являются адениннуклеотиды [1—3]. Данные о более выраженном влиянии на активность фермента ATP по сравнению с ADP указывают на то, что AMPдезаминаза мозгового слоя надпочечников похожа в этом отношении на фермент мозговой ткани [10]. Отсутствие выраженного эффекта ADP и ATP на образование аммиака из AMP в корковом слое надпочечников свидетельствует о том, что оно не связано с непосредственным дезаминированием AMP, а, скорее всего, обусловлено его дефосфорилированием под влиянием 5'-нуклеотидазы и переходом в аденозин.

В табл. 2 представлены данные, свидетельствующие о том, что AMP-дезаминазная активность мозгового слоя надпочечников связана с ХГ.

Видно, что удельная активность АМРдеаминазы в ХГ в 5—6 раз выше по сравнению с мозговым слоем надпочечников. В ХГ из аденозина образовалось значительно меньше аммиака, чем из АМР в присутствии АТР или АДФ.

Удельная активность АМРдеаминазы в отличие от аденозиндеаминазы возрастала при получении ХГ из мозгового слоя надпочечников. Это указывает на то, что фермент из мозгового слоя локализован в ХГ.

В ряде исследований показано, что выделенная из синапсом фракция, обогащенная актомиозиноподобным сократительным белком—нейростенином, обладает заметной АМРдеаминазной активностью [4, 11].

Следует отметить, что ХГ надпочечников также содержат актомиозиноподобные белки, которые, по данным ряда авторов, могут иметь определенное значение в Ca^{2+} -зависимом внутриклеточном перемещении везикул и секреции нейромедиаторов путем экзоцитоза [12].

Полученные результаты дают основание полагать, что в ХГ надпочечников, так же, как и в синапсоммах мозга, АМРдеаминаза и сократительные актомиозиноподобные белки могут быть функционально связаны.

AMP AND ADENOSINE DEAMINATION IN CHROMAFFIN TISSUE

HARUTJUNIAN A. V., KOCHARIAN M. G.

Institute of Biochemistry, Academy of Sciences of Armenian SSR, Yerevan

The deamination of adenosine and AMP has been found in bovine adrenal medulla, whereas in adrenal cortex only the intensive deamination of adenosine is observed. AMP deamination in the medulla is connected with chromaffin granules indicating a certain functional relationship between this activity and contractile actomyosine-like proteins of chromaffin granules.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арутюнян А. В. Вопросы биохимии мозга, Ереван, Изд-во АН АрмССР, 9, 251—272, 1974.
2. Пеккель В. А. Успехи совр. биол., 89, 377—393, 1980.
3. Zielke C. L., Sullter C. H. Enzymes, 4, 47—77, 1971.
4. Ниязян Р. М., Арутюнян А. В. Вопросы биохимии мозга, Ереван, Изд-во АН АрмССР, 14, 121—126, 1980.
5. BurrIDGE K., Bray D. I. Mol. Biol., 99, 1—14, 1975.
6. BurrIDGE K., Phillips I. H. Nature, 254, 526—529, 1975.
7. TrifarO I. M., Ulpian C. FEBS Lett., 57, 193—202, 1975.
8. Нерсисян Ц. М., Арутюнян А. В., Гулян Э. А. Бюл. ж. Армении, 34, 351—356, 1981.
9. Hoffman P. G., Linger O., Bonner W. M., Pollard H. B. Arch. Biochem. Biophys., 176, 375—388, 1976.
10. Арутюнян А. В., Ловенштейн Дж. М. Вопросы биохимии мозга, Ереван, Изд-во АН АрмССР, 12, 29—40, 1977.
11. Weil-Malherbe H. J. Neurochem., 24, 801—803, 1974.
12. Pollard H. B., Pazoles C. I., Creutz C., Zinder O. Intern. Rev. Cytol., 58, 159—197, 1979.

ОБЗОРЫ

УДК 547.952:612.822.1

О РОЛИ ГАНГЛИОЗИДОВ В ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ НЕРВНЫХ
КЛЕТОК И СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧЕ
НЕРВНОГО ИМПУЛЬСА

АВРОВА Н. Ф.

Приводится характеристика современных представлений о строении, топографии и функциональной роли ганглиозидов в мембранах нервных клеток. Показано, что для понимания их функций важное значение имеют как биохимическое изучение нативных биологических мембран, так и эксперименты, использующие различные модели—от искусственных мембран до первичных культур клеток. Ганглиозиды принимают непосредственное участие в процессах межклеточного взаимодействия. Они, особенно полисигалоганглиозиды, могут способствовать процессам дифференцировки нервных клеток и контактному торможению клеточного роста и размножения. В статье дается критический анализ данных, свидетельствующих об участии ганглиозидов, сиаловые кислоты которых в значительной мере определяют отрицательный заряд возбудимых мембран нервных клеток, в транспорте ионов через эти мембраны и в процессах синаптической передачи нервного импульса.

Ганглиозиды представляют собой сложные гликофинголипиды, содержащие сиаловые кислоты. Наряду с другими сложными соединениями липидной и белковой природы, имеющими в своем составе углеводный компонент, они во многом определяют функциональные свойства и структуру клеточных мембран, их микрогетерогенность. Лучше всего изучены гликоконъюгаты наружных мембран клеток, их роль в различных процессах, протекающих на клеточной поверхности, представляющей собой динамичную структуру, способную к интегративному анализу внешних воздействий.

Расшифровка механизмов участия ганглиозидов в осуществлении биологическими мембранами их многообразных функций представляет собой значительные трудности. Во многих статьях, посвященных ганглиозидам, еще в начале семидесятых годов указывалось, что функциональная роль этих соединений пока не выяснена.

В настоящее время представления о роли ганглиозидов в жизнедеятельности клеток заметно обогатились. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что ганглиозиды в значительной мере определяют процессы межклеточного взаимодействия. Они, очевидно, способствуют дифференцировке клеток, в частности процессам синаптогенеза и контактного ингибирования клеточного роста и размножения. Рецепторные функции и антигенная активность ганглиозидов в определенных

аспектах непосредственно связаны с ролью этих сложных гликолипидов в процессах межклеточного взаимодействия [1—4].

Наряду с общими для различных гликоконъюгатов функциями ганглиозидам присущи и специфические функции в возбудимых мембранах нервных клеток. В организме позвоночных основным местом локализации ганглиозидов являются плазматические мембраны нервных клеток; наибольшая концентрация этих сложных гликолипидов характерна для мембран в местах синаптических контактов [5, 6]. Показано, что ганглиозидам клеточных мембран свойственна адаптационная роль, причем особенно велик их вклад в приспособительные изменения состава мембран нервных окончаний [7, 8].

Более глубокому пониманию структуры и функций гликоконъюгатов клеточных мембран как липидной, так и белковой природы способствовало применение иммунохимических методов исследования и аффинной хроматографии. Наряду с изучением морфологической, биохимической и функциональной организации нативных биологических мембран плодотворным является использование различных моделей—от искусственных мембран до культур клеток. Подобные эксперименты имеют особенно важное значение при изучении такого сложного по структуре гетерогенного образования, каковым является ткань мозга. Существенные успехи в понимании биохимических механизмов дифференцировки нейронов и синаптогенеза были достигнуты в последние годы с помощью изучения первичных культур нейронов.

Строение ганглиозидов. Сialовые кислоты обнаружены в составе двух из шести классов сложных гликофосфолипидов позвоночных—в ганглио- и в неолактосериях [9]. Ганглиозиды ганглиосерии содержат в своем составе N-ацетилгалактозамин, тогда как ганглиозиды неолактосерии содержат в своем составе N-ацетилглюкозамин. В мозгу млекопитающих преобладают ганглиозиды ганглиосерии, содержащие 4 моносахаридных остатка и от 1 до 3 остатков сialовых кислот в своей молекуле— G_{M1} , G_{D1a} , G_{D1b} и G_{T1}^* по номенклатуре Svennerholm [10]. В меньших количествах в ткани мозга присутствует и тетрасиалоганглиозид с аналогичным строением углеводной цепи— G_{Q1} . Сialовые кислоты в молекуле ганглиозидов связаны либо с остатками галактозы, либо с другими остатками сialовых кислот (рис. 1). В экстракционных органах, как правило, преобладают ганглиозиды с короткой углеводной цепью и ганглиозиды неолактосерии. В мозгу млекопитающих и других позвоночных они встречаются в виде миксюрных фрак-

* Индексы M, D, T, Q и т. д. употребляются для обозначения моно-, ди-, три-, тетрасиалоганглиозидов и т. д. Цифра 1 индекса употребляется для обозначения ганглиозидов, имеющих 4 моносахаридных остатка в молекуле (рис. 1), цифра 2—для обозначения ганглиозидов, лишенных конечной галактозы, 3—для ганглиозидов, в молекуле которых отсутствует еще и остаток гексозамина. Значки «а», «b», «с» указывают на местоположение остатков сialовых кислот в молекуле ганглиозида. Значок «а» указывает на наличие одного остатка сialовой кислоты у проксимальной (внутренней) галактозы, «b»—на наличие двух и «с»—трех остатков.

ний. В мозгу и других органах млекопитающих были выявлены также наибольшие количества ганглиозидов, имеющие в своем составе фукозу [11], 5 остатков нейтральных гексоз [12] и другие ранее не описанные формы ганглиозидов. Основной сialовой кислотой ганглиозидов мозга млекопитающих является N-ацетилнейраминная кислота, тогда как N-гликолилнейраминная кислота составляет у большинства видов меньше 1% от суммы сialовых кислот, либо вообще не выявляется [7, 13, 14]. В составе ганглиозидов мозга млекопитающих обнаружены O-ацетильные производные, на долю которых приходится у изученных видов 4—15% от суммы сialовых кислот [15].

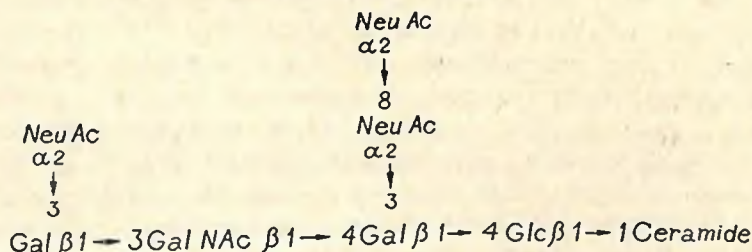


Рис. 1. Строение основного трисialogанглиозида мозга млекопитающих— G_{11b}

В строении углеводного компонента ганглиозидов (и других гликолипидов), с одной стороны, и гликопротеинов, с другой, выявлены общие черты. Так, например, для ганглиозидов мозга и гликопротеинов, имеющих O-гликозидные связи в составе своих молекул, характерны повторяющиеся последовательности Gal ($\beta 1 \rightarrow 3$) GalNac [16—18]. Общие терминальные углеводные последовательности этих соединений представлены на рис. 2. Сходство в строении гликоконъюгатов липидной и белковой природы подтверждено и при использовании иммунохимических методов [19]. Оно обуславливает и определенное сходство в выполняемых ими функциях. Кроме того, следует отметить, что различные гликоконъюгаты функционируют во многих случаях в тесном взаимодействии друг с другом [2, 4].

Топография ганглиозидов в мембранах, динамика их распределения. В биологических мембранах ганглиозиды входят своей церамидной частью в состав липидного бислоя, тогда как их углеводные цепи выдаются за пределы гидрофобной матрицы мембраны. В плазматических мембранах клеток углеводный компонент ганглиозидов, как и других гликоконъюгатов, экспонирован, главным образом, наружу, в сторону межклеточного пространства. Имеются, однако, указания на то, что небольшая часть ганглиозидов наружных мембран обращена, по-видимому, внутрь клетки [5, 6, 20].

Углеводные цепи сложных гликолипидов в мембранах имеют тенденцию к кооперативному взаимодействию. При наличии солей двухвалентных металлов (Ca^{2+} , Mg^{2+} и др.) происходит ассоциация сialовых кислот ганглиозидов [21]. Ганглиозиды, как и другие глико-

сфинголипиды, могут играть существенную роль в стабилизации клеточных мембран. Взаимодействие углеводных цепей гликоконъюгатов друг с другом и с фосфолипидами происходит при этом, вероятно, в значительной мере за счет образования водородных связей [22—24]. Добавление ганглиозидов к мембранам, состоящим из фосфолипидов, повышает температуру фазового перехода, причем, чем выше относительное содержание ганглиозидов в составе липидов мембран, тем меньшей степенью жидкости обладают липиды мембран. При изучении модельных мембран, построенных из одних ганглиозидов, было найдено, что они не испытывают (в отличие от гликолипидов с короткой углеводной цепью) фазового перехода в широком диапазоне исследованных температур [21].

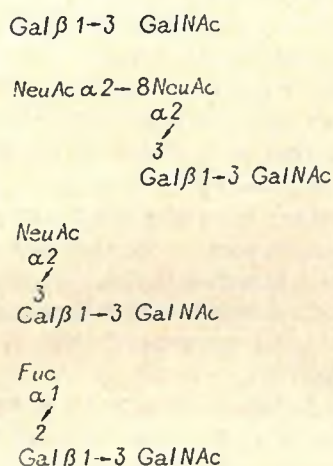


Рис. 2. Терминальные углеводные последовательности общие у содержащих GalNAc ганглиозидов и гликопротеинов

Ганглиозиды, как и другие гликоконъюгаты, способны, по современным представлениям, к латеральной диффузии. Изучение локализации ганглиозидов в наружных мембранах нервных клеток показало, что они распределены по всей мембране, при этом ганглиозиды обладают, очевидно, способностью к спонтанному образованию относительно мелких скоплений—кластеров [5, 6, 25]. В районе синаптических контактов отмечена наиболее высокая концентрация этих гликолипидов [5, 6].

Ганглиозидам в биологических мембранах свойственны и процессы направленного латерального движения. Так, под воздействием лигандов, например токсинов, показано образование крупных скоплений—шапок ганглиозидов. Процесс идет с затратой энергии, при участии элементов цитоскелета и находится под контролем ядра [26, 27].

Роль ганглиозидов в дифференцировке нервных клеток и синаптогенезе. Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют

об участии ганглиозидов в межклеточном взаимодействии. Одним из наиболее эффективных подходов к исследованию этого процесса является использование клеточных культур. При изучении клональных линий различных типов клеток, в том числе нейрональных и глиальных, выращиваемых в монослое, было найдено, что дифференцированные клетки обладают, как правило, более высоким содержанием ганглиозидов по сравнению с менее дифференцированными. Увеличение содержания ганглиозидов в клеточных культурах под влиянием агентов, способствующих дифференцировке клеток (таких, как масляная кислота, бромдезоксинуридин и других), вызвано, по-видимому, в значительной мере индукцией ферментов их синтеза. Показано, что добавление экзогенных ганглиозидов приводит в ряде случаев к переходу клеток в дифференцированное состояние [3, 28—30]. Изменение содержания ганглиозидов и морфологии клеток происходит, как правило, параллельно: содержание ганглиозидов оказывается наибольшим в то время, когда черты морфологической дифференцировки являются наиболее выраженными. При нарушении цитоскелета этого параллелизма не наблюдается [28, 29, 31].

Ганглиозиды, по-видимому, участвуют также в процессах контактного торможения клеточного роста и размножения. Увеличение содержания некоторых из них (например, G_{b5} и G_{m3}) при установлении клеточных контактов и увеличении плотности клеток в монослойных культурах является одним из проявлений так называемого «гликолипидного ответа» [2, 32, 33].

Злокачественная трансформация клеток приводит, как правило, к снижению относительного количества ганглиозидов с длинной углеводной цепью (сиалилтетрагексозилцерамидов) и увеличению концентрации ганглиозидов с короткой углеводной цепью, главным образом G_{m3} , что является результатом снижения активности различных гликозилтрансфераз—сиалилтрансферазы, β -N-ацетилгексозаминилтрансферазы и других [34—36]. В трансформированных клетках не происходит накопления сложных ганглиозидов при увеличении плотности в культуре ткани («гликолипидный ответ» не выражен). Они не обладают способностью контактного торможения клеточного роста и размножения и образуют многослойные культуры. Изменение метаболизма ганглиозидов, как и других гликоконъюгатов, рассматривается как одна из причин асоциального поведения трансформированных клеток [2, 32, 37].

Углублению представлений о роли ганглиозидов в процессах межклеточного взаимодействия способствовало использование иммунохимических методов. Оказалось, что антитела против ганглиозидов при их воздействии на клетки в культуре ткани во многом имитируют установление клеточных контактов. Они подавляют клеточный рост и уменьшают плотность насыщения клеток, индуцируют синтез того ганглиозида, против которого они выработаны. Показано, что под влиянием антиганглиозидных антител происходит увеличение активности

аденилатциклазы и уменьшение—гуанилатциклазы. Интересно отметить, что при действии на трансформированные клетки антитела, как правило, не оказывают подобного воздействия [1, 2].

Предположение о том, что накопление гликолипидов при установлении клеточных контактов служит, возможно, триггерным механизмом, изменяющим клеточный метаболизм при участии аденилатциклазной системы, высказывалось еще в начале 70-х годов [38]. Данные, полученные с помощью иммунохимических методов, являются убедительным экспериментальным подтверждением этого предположения [1, 2].

Для нервных клеток характерно контактное торможение на ранних стадиях развития. Им свойственно также наиболее высокое содержание ганглиозидов, особенно полисialogанглиозидов, по сравнению с другими клетками организма.

Интересные данные, характеризующие процессы дифференцировки нервных клеток и синаптогенеза, получены в последние годы при изучении первичных культур нервных и глиальных клеток, выделенных из мозга эмбрионов млекопитающих. Первичные культуры нейронов и глии в значительно большей мере отражают морфологическую и биохимическую организацию клеток нервной ткани *in vivo*, чем клональные линии этих клеток, которые получают из опухолей—нейробластом, глиом, либо из клеток, трансформированных при их культивировании [1, 3]. Как отмечают Mandel с соавт., клональные линии трансформированных нейронов, не образующие синапсов при их выращивании в культуре, практически не содержат полисialogанглиозидов и обладают низким содержанием дисialogанглиозида G_{Dib} , тогда как для первичных культур нейронов, которые образуют синаптические контакты, характерно высокое содержание три- и тетрасialogанглиозидов, а также дисialogанглиозидов G_{Dib} [1]. Эти ганглиозиды присутствуют в сходных относительных количествах в ткани мозга млекопитающих, но не являются, как правило, характерными для экстранейрональных тканей и органов. Следует отметить, что под влиянием агентов, способствующих дифференцировке, клональные культуры нервных клеток приобретают многие морфологические черты нейронов, однако состав ганглиозидов этих клеток продолжает разительно отличаться от состава ганглиозидов мозга млекопитающих. В таблице показано, что в составе линий M1, MT17 (клетки нейронального типа) и NN (клетки глиального типа) отсутствуют три- и тетрасialogанглиозиды, тогда как они характерны для первичных культур нервных и глиальных клеток. Аналогичные данные были получены и при изучении других культур клеток [1, 29, 39].

Различные методические подходы указывают на то, что синаптические мембраны мозга млекопитающих по сравнению с другими структурами нервной ткани [6, 40] обогащены три- и тетрасialogанглиозидами, а также дисialogанглиозидом G_{Dib} .

Таблица

Состав ганглиозидов клеточных линий и первичных культур нейронов и глии мозга мышей [1]

Фракция ганглиозидов	Культуры клеток			Нейроны**	Глиальные клетки
	MT17*	M1*	NN*		
G _{M3}	—	5,7±0,9	66,8±3,3	5,9±1,2	9,4±0,2
G _{M2}	7,4±0,3	23,9±3,2	—	3,3±1,1	2,6±0,6
G _{M1}	33,9±0,6	12,6±4,1	1,3±0,2	7,1±3,4	6,3±0,2
G _{P3}	13,0±0,5	—	30,6±2,1	16,9±2,9	27,4±1,5
G _{P1a}	44,2±0,9	53,1±3,9	2,3±0,2	21,6±2,7	35,0±0,8
G _{P1b}	—	4,7±0,3	—	10,8±1,1	4,7±1,6
G _{T1}	—	—	—	28,6±6,0	14,2±2,5
G _{Q1}	—	—	—	5,9±2,3	0,4±0,3

* MT17 и M1 представляют собой линии трансформированных клеток мозга мыши нейронального типа; NN—спонтанно трансформированные астроциты клона NN

** нейроны выделяли из мозга 14—15-дневных эмбрионов мыши; глиальные клетки представляют собой астроциты, также выделенные из мозга эмбрионов мыши

Совокупность приведенных экспериментальных данных свидетельствует о важной роли этих наиболее полярных ганглиозидов в дифференцировке нервных клеток и их непосредственном участии в синаптогенезе.

Для объяснения биохимических механизмов межклеточных взаимодействий выдвинуты различные гипотезы. В начале 70-х годов популярной была гипотеза Roseman [41], высказавшего предположение, что в основе межклеточных контактов лежит взаимодействие локализованных на поверхности клеток гликозилтрансфераз с гликоконъюгатами соседних клеток. Однако представления о локализации гликозилтрансфераз недавно были пересмотрены. Оказалось, что лишь незначительная часть этих ферментов связана с наружными мембранами клеток, в частности нервных клеток. Основным местом локализации различных гликозилтрансфераз в печени, почках, мозгу и других тканях являются мембраны аппарата Гольджи и гладкого эндоплазматического ретикулума [42—46]. Так, мембраны аппарата Гольджи из клеток печени крыс в 20—50 раз более обогащены гликозилтрансферазами, осуществляющими синтез ганглиозидов, по сравнению с гомогенатом [42, 44]. В свете этих данных следует, по-видимому, отдать предпочтение другим гипотезам и моделям.

Согласно модели, предложенной Nakomori [2, 32], контактное торможение клеточного роста и размножения определяется в большей мере специфическим взаимодействием белков клеточной поверхности (эктопротеинов) с ганглиозидами и другими сложными гликолипидами соседних клеток, имеющими комплементарные углеводные последовательности (рис. 3). Благодаря увеличению при установлении клеточных контактов содержания гликолипидов с относительно длинной углевод-

ной цепью (явление «гликолипидного ответа») образование связей между соседними клетками облегчается.

При злокачественной трансформации клеток углеводные цепи ганглиозидов и других гликолипидов являются неполными (вследствие нарушения процессов гликозилирования), в них отсутствуют комплементарные эктопротенны, что является, по мнению Накотогі и соавт., причиной нарушения контактного торможения клеточного роста и размножения и асоциального поведения подвергшихся злокачественному перерождению клеток [2, 32].

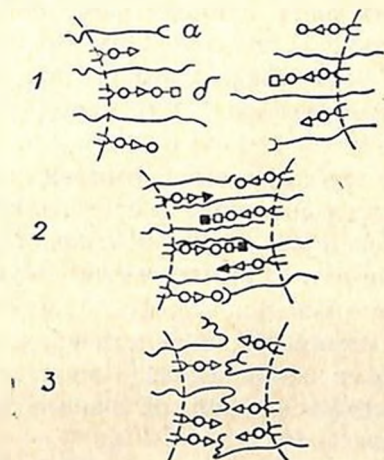


Рис. 3. Модель межклеточного взаимодействия [2]: а—эктопротенны, б—гликолипиды; 1—растущие клетки, 2—установление контактов между клетками 3—трансформированные клетки (отсутствие комплементарных структур)

Роль ганглиозидов в процессах синаптической передачи. В нервной ткани ганглиозиды играют особую роль в процессах распространения и передачи нервного импульса [6, 47, 48]. В пользу этого свидетельствует высокая концентрация ганглиозидов в нервной ткани (на один-два порядка более высокая, чем в экстракнейрональных тканях и органах), их преимущественная локализация в районе синаптических контактов [5, 6] и закономерное возрастание их концентрации в ткани головного мозга в процессе эволюционного развития позвоночных.

В ряде работ показано увеличение интенсивности включения радиоактивной метки в ганглиозиды мозга и сетчатки млекопитающих (увеличение скорости их обмена) после поведенческой стимуляции и обучения определенным навыкам [50, 51]. Опиаты и энкефалины, напротив, подавляют включение метки в ганглиозиды, не оказывая влияния на синтез фосфолипидов [52].

Результаты экспериментов, проведенных с использованием различных моделей, также позволяют прийти к выводу об участии ганглиозидов в транспорте ионов через мембраны нервных клеток и процессах синаптической передачи [53—55]. Так, при добавлении ганглиозидов к

лецитиновым двухслойным мембранам электрическая проводимость этих мембран возрастает на один-два порядка [54]. Еще в 60-е годы в работах McIlwain и сотр. было показано, что ганглиозиды могут восстанавливать электровозбудимость срезов мозга и способность их клеток к активному транспорту K^+ против градиента концентрации, утраченную, в частности, из-за воздействия освобождающихся из ядра протаминов [53]. Биохимический механизм этого явления пока не выяснен. Поэтому интересно предположение о том, что ганглиозиды могут выступать в роли аллостерических эффектов Na^+ , K^+ -АТФазы, высказанное на основании изучения влияния различных концентраций ганглиозидов на активность фермента [56]. Другие полианионы, хотя и обладают меньшей, чем ганглиозиды активностью, также могут восстанавливать способность срезов мозга к транспорту K^+ против градиента концентрации [50].

Обработка клеток экзогенной нейраминидазой приводит к отщеплению значительной части сиаловых кислот гликоконъюгатов, что свидетельствует об их расположении на поверхности клеточных мембран. Эти данные важны еще и тем, что показали обусловленность отрицательного заряда клеточной поверхности карбоксильными группами сиаловых кислот. Так, например, обработка эритроцитов нейраминидазой приводит к потере их подвижности в электрическом поле на 80%. Подвижность синапсом также значительно снижается в результате обработки этим ферментом [57—59].

В нервной ткани большая часть сиаловых кислот присутствует в составе ганглиозидов, тогда как в других тканях и органах 90—95% сиаловых кислот гликоконъюгатов клеточных мембран приходится на долю гликопротеинов [59, 60]. Эти отличия состава связаны, по-видимому, с функциональными особенностями нервной ткани, определяющими во многом специфику организации наружных мембран нервных клеток, обладающих электрогенными свойствами.

Ганглиозидам биологических мембран свойственны адаптационные функции [7, 8]. Они обнаруживают значительные, более выраженные, чем у фосфолипидов, компенсаторные изменения состава жирных кислот в зависимости от температуры функционирования клеточных мембран (а у водных позвоночных в зависимости от температуры и глубины обитания). При адаптации животных к условиям обитания ганглиозиды выполняют особенно важную роль в приспособительных изменениях состава синаптических мембран [7, 8]. Эти данные представляют интерес в связи с тем, что существует точка зрения, согласно которой температурная устойчивость вида связана прежде всего с поддержанием функции синаптической передачи нервного импульса [61]. В ЦНС млекопитающих подобные биохимические компенсаторные механизмы адаптации к меняющейся температуре обитания используются прежде всего у зимнеящих животных. Они, вероятно, имеют существенное приспособительное значение в мембранах нервных клеток периферической НС.

Следует отметить, что в отличие от жирных кислот приспособительные изменения состава оказались не свойственными другим компонентам молекулы ганглиозидов (углеводный компонент и сфингозиновые основания), которые в большей мере обуславливают выполнение ганглиозидами их специфических функций [62].

В настоящее время доказано непосредственное участие ганглиозидов в процессах рецепции многих биологически активных веществ: токсинов холеры, столбняков, вируса Сендана, тиреотропина и некоторых других гормонов, интерферона и т. п. Поэтому большое внимание исследователей привлекает изучение их роли в процессах рецепции медиаторов, в частности медиаторов пептидной природы. Пока не удалось получить определенных доказательств участия ганглиозидов в рецепции этих веществ. Хотя исследования в этом направлении проводились, ганглиозиды не рассматриваются в качестве вероятных компонентов рецепторов опиатов в отличие от сульфocereброзидов, которым, вероятно, присущи эти функции [63] и др. Большое число работ посвящено изучению роли ганглиозидов в процессах рецепции серотонина постсинаптическими мембранами. В опытах *in vitro* показано, что добавление ганглиозидов восстанавливает чувствительность к серотонину различных биологических препаратов, например полоски дна желудка крысы, утраченную под воздействием нейраминидазы [64]. В процессах взаимодействия серотонина с мицеллами ганглиозидов происходят структурные превращения мицелл [65]. Конформация серотонина, связанного с ганглиозидами, существенно отличается от конформации этого соединения, находящегося в свободном состоянии, что было показано с помощью метода ядерного магнитного резонанса [66]. Однако, по данным Ochoa и Bangham [67], серотонин и ганглиозиды имеют низкие константы сродства (10^{-2} моль), их связывание легко обратимо. Изучение роли ганглиозидов при взаимодействии серотонина с синаптическими мембранами представляет интерес, хотя ганглиозиды не являются единственными компонентами рецепторов серотонина.

Ганглиозиды благодаря наличию сиаловых кислот обладают способностью к сильному и избирательному взаимодействию с Ca^{2+} , играющим важную роль в возникновении и распространении потенциала действия [23, 68, 69].

Гипотезы, пытающиеся объяснить механизмы участия ганглиозидов в процессах транспорта катионов и передачи нервного импульса, включают взаимодействие ганглиозидов с ионами кальция как один из важнейших этапов в последовательности биохимических превращений, лежащих в основе этих процессов [47, 70, 71].

По гипотезе Svennerholm [6], ганглиозиды наружных мембран нервных клеток, в том числе локализованные в районе синаптических контактов, находятся в связанном с Ca^{2+} состоянии. В результате распространения волны деполяризации Ca^{2+} замещаются на Na^{+} и транспортируются через специальные каналы с наружной поверхности мембраны в пресинаптическую цитоплазму. В результате стабильность

плазматических мембран резко падает, что облегчает слияние синаптических пузырьков, несущих медиатор, с пресинаптической мембраной. Увеличение концентрации Ca^{2+} в цитоплазме пресинапса приводит к сокращению микрофиламентов и излиянию передатчика (медиатора) в синаптическую щель. Медиатор таким образом оказывает воздействие на субсинаптические рецепторы. Отрицательный заряд ганглиозидов мембраны, имеющих в качестве противоиона Na^+ , облегчает поглощение избытка заряженных положительно медиаторов пресинаптической частью нервного окончания. Через некоторое время концентрация Ca^{2+} в межклеточном пространстве увеличивается, Na^+ обменивается на Ca^{2+} , к которому ганглиозиды имеют большое сродство, а мембрана снова становится сравнительно мало проницаемой для ионов и медиаторов [6].

Таким образом, в нервной ткани большая часть сialовых кислот электрогенных мембран находится в составе ганглиозидов. По современным представлениям, сialовые кислоты гликоконъюгатов определяют в значительной мере отрицательный заряд биологических мембран. Результаты модельных экспериментов свидетельствуют о непосредственном участии ганглиозидов в процессах транспорта ионов через мембраны нервных клеток и синаптической передачи.

Ганглиозиды, как показали исследования с использованием метода культуры ткани, способствуют переходу клеток в дифференцированное состояние, контактному торможению клеточного роста и размножения. В процессах дифференцировки нервных клеток и синаптогенеза наиболее существенную роль играют полисialоганглиозиды, то есть самые обогащенные сialовыми кислотами фракции этих липидов.

ON THE ROLE OF GANGLIOSIDES IN NERVOUS CELL DIFFERENTIATION AND IN SYNAPTIC TRANSMISSION

AVROVA N. F.

Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, USSR Academy of Sciences, Leningrad

The functional role of gangliosides in nervous cell membranes is reviewed. Numerous data indicate that gangliosides participate in cell-cell interaction. These lipids, especially polysialogangliosides, promote the nervous cell differentiation and the contact inhibition of cell growth, the primary cultures of neurons and glial cells from embryonic mammalian brain being the most interesting models for such studies. The critical consideration of evidences for participation of gangliosides in cation transport across plasma membranes of nervous cells and in synaptic transmission has been made.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mandel P., Dreyfus H., Yusufi A. N. K., Sarliève L., Robert J., Neskovic N., Harth S., Rebel G. Adv. Exp. Med. Biol., 125, 515—532, 1980.
2. Hakomori S., Young W. W., Patt L. M., Yoshino T., Halpapp L., Lingwood C. A. Adv. Exp. Med. Biol., 125, 247—262, 1980.
3. Rebel G., Robert J., Mandel P. Adv. Exp. Med. Biol., 125, 159—166, 1980.
4. Kohn L. D., Consiglio E., Wolf M. J. S., Grollman E. F., Ledley F. D., Lee G., Morris N. P. Adv. Exp. Med. Biol., 125, 487—504, 1980.
5. Hansson H.-A., Holmgren J., Svennerholm L. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 3782—3786, 1977.
6. Svennerholm L. Adv. Exp. Med. Biol., 125, 533—544, 1980.
7. Аврора Н. Ф., Обухова Е. Л., Крени Е. М.—В сб.: Физиология и биохимия морских и пресноводных организмов, Л., Наука, с. 130—155, 1979.
8. Крени Е. М.—В сб.: Физиология и биохимия морских и пресноводных организмов, Л., Наука, с. 3—21, 1979.
9. Крени Е. М., Ашмарин И. П. Нейрохимия, 1, 11—19, 1982
10. Svennerholm L. J. Neurochem., 10, 613—624, 1963.
11. Sonnino S., Ghidoni R., Galli G., Tettamanti G. J. Neurochem., 31, 947—956, 1978.
12. Svennerholm L., Mansson J.-E., Li Y.-T. J. Biol. Chem., 248, 740—742, 1973.
13. Yu R. K., Ledeen R. W. J. Lipid Res., 11, 506—515, 1970.
14. Ghidoni R., Sonnino S., Tettamanti G., Wiegandt H., Zambotti V. J. Neurochem., 27, 511—515, 1976.
15. Haverkamp J., Veh R. W., Sander M., Schauer R., Kamerling J. P., Vliegenhart J. F. G., Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 358, 1609—1612, 1977.
16. Thomas D. B., Winzler R. G. J. Biol. Chem., 244, 5943—5946, 1969.
17. Wiegandt H. Adv. Lipid Res., 9, 249—289, 1971.
18. Rauvala H., Finne J. Adv. Exp. Med. Biol., 125, 185—198, 1980.
19. Tonegawa Y., Hakomori S.-J. Biochem. Biophys. Res. Commun., 76, 9—17, 1977.
20. Leskawa K., Rossenberg A. Adv. Exp. Med. Biol., 125, 125—136, 1980.
21. Sillerud L. O., Schafer D. E., Yu R. K., Konigsberg W. H. J. Biol. Chem., 254, 10876—10880, 1979.
22. Abrahamsson S., Dahler B., Löfgren H., Pascher J., Sundell S.—In: Structure of biological membranes, ed. by Abrahamsson S., Pascher J., Plenum Press, New York, London, 1—23, 1977.
23. Sharom F. J., Grant Ch. W. M. Biochem. Biophys. Acta, 507, 280—293, 1978.
24. Yamakawa T., Nagai Y. Trends in Biochem. Sci., 3, 128—131, 1978.
25. Ledeen R. W. J. Supramol. Struct., 8, 1—17, 1978.
26. Sela B. A., Raz A., Geiger B. Eur. J. Immunol., 8, 268—274, 1978.
27. Holmgren J., Elwing H., Fredman P., Strannegård Ö., Svennerholm L. Adv. Exp. Med. Biol., 125, 453—470, 1980.
28. Fishman P. H., Bradley R. M., Henneberry R. C. Arch. Biochem. Biophys., 172, 618—626, 1976.
29. Robert J., Rebel G., Mandel P. J. Lipid Res., 18, 517—522, 1977.
30. Keenan T. W., Schmid E., Franke W. W., Wiegandt H. Exp. Cell Res., 92, 259—270, 1975.
31. Morgan J. I., Seifert W. J. Supramol. Struct., 10, 111—124, 1979.
32. Hakomori S. Biochim. Biophys. Acta, 417, 55—89, 1975.
33. Whatley R., Ng S. K. C., Rogers J., McMurray W. C., Sanwal B. D. Biochem. Biophys. Res. Commun., 70, 180—185, 1976.
34. Brady R. O., Fishman P. H. Biochim. Biophys. Acta, 355, 121—148, 1974.
35. Дятловицкая Э. В., Новиков А. М., Бергельсон Л. Д. Вестн. АМН СССР, 3, 46—50, 1977.
36. Merritt W. D., Morre D. J., Keenan Th. W. J. Nat. Cancer Inst., 60, 1329—1337, 1978.

37. Sakiyama H., Terasima T. *Cancer Res.*, 35, 1723—1726, 1975.
38. Turner R. S., Burger M. M. *Ergeb. Physiol. (Review of Physiol.)*, 68, 121—155, 1973.
39. Dreyfus H., Harth S., Yusufi A. N. K., Urban P. F., Mandel P. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 125, 227—237, 1980.
40. Avrova N. F., Chenykaeva E. Yu., Obukhova E. L. *J. Neurochem.*, 20, 997—1004, 1973.
41. Roseman S. *Chem. Phys. Lipids*, 5, 270—297, 1970.
42. Keenan T. W., Morre D. J., Basu S. J. *Biol. Chem.*, 249, 310—315, 1974.
43. Mitranic M. M., Sturgess J. M., Moscarello M. A. *J. Membrane Biol.*, 19, 397—408, 1975.
44. Richardson C. L., Keenan T. W., Morre D. J. *Biochim. Biophys. Acta*, 488, 88—96, 1977.
45. Landa C. A., Macconi H. J. F., Caputto R. J. *Neurochem.*, 33, 825—838, 1979.
46. Dain J. A., Ng S.-S. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 125, 239—245, 1980.
47. Lehninger A. *Proc. Nat. Acad. Sci. of USA*, 60, 1069—1080, 1968.
48. Krpec E. M.—В кн.: *Успехи нейрохимии*, Л., Наука, с. 50—61, 1974.
49. Avrova N. F. *J. Neurochem.*, 18, 667—674, 1971.
50. Irwin L. N., Samson F. E. *J. Neurochem.*, 18, 203—211, 1971.
51. Savaki H. E., Levits G. M. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 7, 7—12, 1977.
52. Dawson G., McLawhon R., Miller R. J. *Proc. Nat. Acad. Sci. of USA*, 76, 605—609, 1979.
53. McIlwain H. J. *Lipid Res.*, 5, 145—154, 1964.
54. Clowes A. W., Cherry R. J., Chapman D. J. *Mol. Biol.*, 67, 49—55, 1972.
55. Tumanova S. Yu., Badjinyan S. A., Nalbandyan R. M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 84, 520—526, 1978.
56. Мхлян Э. Е., Соцкий О. П., Акопов С. Э. *Бiol. ж. Армении*, 31, 360—364, 1978.
57. Cook G. M. W. *Biol. Rev.*, 43, 363—391, 1968.
58. Bosman H. B., Carlson W. *Exp. Cell Res.*, 72, 436—440, 1972.
59. Кук Дж.—В кн.: *Биохимическое исследование мембран* (под ред. Э. Медди) М., Мир, с. 254—312, 1979.
60. Puro K., Maury P., Huttunen J. K. *Biochim. Biophys. Acta*, 187, 230—235, 1969.
61. Krpec E. M. *Липиды клеточных мембран* (Эволюция липидов мозга. Адаптационная функция липидов), Л., Наука, 1981.
62. Avrova N. F. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 125, 177—186, 1980.
63. Boegman R. G. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 125, 267—273, 1980.
64. Вейнберг А. Я., Манухин Б. Н., Решетникова Н. А., Чуприянова Н. Е., Самохвалов Г. И. *Вопросы мед. химии*, 18, 477—482, 1972.
65. Чуприянова Н. Е., Ямпольская Г. П., Вейнберг А. Я., Самохвалов Г. И. *Биофизика*, 21, 453—458, 1976.
66. Krishnan K. S., Balaram P. *FEBS Lett.*, 63, 313—315, 1976.
67. Ochoa E. D. M., Bangham A. D. J. *Neurochem.*, 26, 1193—1198, 1976.
68. Hayashi K., Katagiri A. *Biochim. Biophys. Acta*, 337, 107—117, 1974.
69. Чичуа А. И., Микеладзе Д. Г. *Сообщ. АН СССР*, 90, 473—476, 1978.
70. Rahmann H., Rösner H., Breer H. J. *Theor. Biol.*, 57, 231—237, 1976.
71. Veh R. W., Sander M. *Proc. Int. Symp. „Sialidasis and sialidoses“*, Genova, ed.: Ermes Publ., Milano, 1981.

Лаборатория нейрохимии Института
эволюционной физиологии и биохимии
им. И. М. Сеченова, Ленинград

Поступила 4.I 1982

БИБЛИОГРАФИЧЕСКАЯ ИНФОРМАЦИЯ

УДК 016(05/06):612.8+016(05/06):615.78+016(05/06):616.8

ПЕРЕЧЕНЬ МЕЖДУНАРОДНЫХ И НАЦИОНАЛЬНЫХ ПЕРИОДИЧЕСКИХ И ПРОДОЛЖАЮЩИХСЯ ИЗДАНИЙ ПО НЕЙРОНАУКАМ

БЕЛИК Я. В.

Перечень изданий по нейронаукам включает названия 490 международных и национальных периодических и продолжающихся изданий, выходящих в 42 странах мира. В список включены журналы, ежегодники и другие специальные издания, публикующие обзорные, экспериментальные, клинические и методические статьи по всем направлениям нейронаук—биохимии, физиологии, фармакологии, эндокринологии, морфологии и патологии нервной системы, а также по нейрорадиологии, психологии, гипнозу, анестезиологии, поведению, обучению, памяти, умственному развитию, гигиене мышления, рецепции, нейро-эндокринной регуляции физиологических функций и биохимических процессов, эволюционному и индивидуальному развитию нервной системы. Столь многопрофильный и численно большой список специальных изданий свидетельствует о том, что нейронауки по актуальности, теоретической и практической значимости занимают особое место среди других биологических наук.

1. Актуальные вопросы невропатологии и нейрохирургии (СССР)
2. Анестезиология и реаниматология (СССР)
3. Вопросы биохимии мозга (СССР)
4. Вопросы биохимии нервной и мышечной систем (СССР)
5. Вопросы нейроофтальмологии (СССР)
6. Вопросы нейрохирургии (СССР)
7. Вопросы психиатрии (СССР)
8. Вопросы психологии (СССР)
9. Вопросы психоневрологии (СССР)
10. Вопросы сосудистой патологии головного и спинного мозга (СССР)
11. Высшая нервная деятельность в норме и патологии (СССР)
12. Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова (СССР)
13. Журнал невропатологии и психиатрии им. С. С. Корсакова (СССР)
14. Неврология, психиатрия и неврохирургия (НРБ)
15. Неврология и психиатрия. Республиканский межведомственный сборник (СССР)
16. Нейрофизиология (СССР)
17. Нейрохимия (СССР)
18. Нервная система (СССР)
19. Периферическая нервная система (СССР)
20. Проблемы неврологичеся, психиатричеся и неврохирургичеся (НРБ)
21. Проблемы неврологии. Республиканский межведомственный сборник (СССР)
22. Проблемы психиатрии (СССР)
23. Психиатрическая клиника и проблемы патологии высшей нервной деятельности (СССР)
24. Психологические исследования (СССР)
25. Психологический журнал (СССР)

26. Психологія. Республіканський науково-методичний збірник (СССР)
27. Психофизиологические вопросы становления профессионала (СССР)
28. Abstracts and Reviews in Behavioral Biology (США)
29. Abstracts of Psychiatry for the General Practitioner (США)
30. Acta anaesthesiologica belgica (Бельгия)
31. Acta anaesthesiologica italica (Италия)
32. Acta anaesthesiologica scandinavica (Дания)
33. Acta neurobiologiae experimentalis (ПНР)
34. Acta neurologica (Италия)
35. Acta neurologica belgica (Бельгия)
36. Acta neurologica et psychiatrica belgica (Бельгия)
37. Acta neurologica latinoamericana (Уругвай)
38. Acta neurologica scandinavica (Дания)
39. Acta neuropathologica (Зап. Берлин)
40. Acta neuro-psychiatrica (Турция)
41. Acta neuropsychiatrica argentina (Аргентина)
42. Acta neurovegetativa (Австрия)
43. Acta paedopsychiatrica (Швейцария)
44. Acta paedopsychiatrica (ФРГ)
45. Acta psychiatraceutica et psychosomatica (Швейцария)
46. Acta psychiatrica et neurologica scandinavica (Дания)
47. Acta psychiatrica scandinavica (Дания)
48. Acta psychotherapeutica, psychosomatica et orthopedagogica (Швейцария)
49. Acta psiquiatrica y psicologica de America Latina (Аргентина)
50. Actas luso-españolas de neurologia y psiquiatria (Испания)
51. Activitas nervosa superior (ЧССР)
52. Actualités neuro-physiologiques (Франция)
53. Advances Behavioral Biology (США)
54. Advances in Behaviour Research and Therapy (Великобритания)
55. Advances in Cellular Neurobiology (США)
56. Advances in Child Development and Behavior (США)
57. Advances in Neurochemistry (США)
58. Advances in Neurosurgery (Зап. Берлин)
59. Advances in Study of Behavior (США)
60. Aggressive Behavior (США)
61. Agressologie (Франция)
62. Alabama Mental Health (США)
63. Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie (Зап. Берлин)
64. American Journal of Insanity (США)
65. American Journal of Mental Deficiency (США)
66. American Journal of Orthopsychiatry (США)
67. American Journal of Psychiatry (США)
68. The American Journal of Psychoanalysis (США)
69. American Journal of Psychotherapy (США)
70. American Psychologist (США)
71. Anaesthesia (Великобритания)
72. Anaesthesiology and Resuscitation /Anästhesiologie und Wiederbelebung/ Anesthesiologie et réanimation (Зап. Берлин)
73. Anästhesiologie und Intensivmedizin (ФРГ)
74. Anästhesiologische Informationen (ФРГ)
75. Anais do Instituto de psiquiatria (Бразилия)
76. Anais portugueses de psiquiatria (Португалия)
77. Anales del Instituto de neurologia (Уругвай)
78. Anales del Servicio de psiquiatria (Перу)
79. Anales neuropsiquiatricos (Колумбия)

80. Anatomical Neuroendocrinology (Швейцария)
81. Anesthesia (Бразилия)
82. Anesthesia e rianimazione (Италия)
83. Anestezja i reanimacja (ПНР)
84. Anesthesia and Analgesia... Current Researches (США)
85. Anesthésie, analgésie et réanimation (Франция)
86. Anesthesiology (США)
87. Annales d'anesthesiologie française (Франция)
88. Annales medico-psychologiques (Франция)
89. Annali dell'Ospedale psichiatrico di Perugia (Италия)
90. Annali di neurologia (Италия)
91. Annali di neurologia e psichiatria (Италия)
92. Annali di neuropsichiatria e psicoanalisi (Италия)
93. L'annee psychologique (Франция)
94. Applied Psychological Measurement (США)
95. Applied Neurophysiology (Швейцария)
96. Arbeiten austriern neurologischen Institut an der Wiener (Австрия)
97. Archelon neurologias (Греция)
98. Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten (Зап. Берлин)
99. Archiv für Psychologie (ФРГ)
100. Archives de neurologie (Франция)
101. Archives internationales de neurologie (Франция)
102. Archives of General Psychiatry (США)
103. Archives of Neurology (США)
104. Archives of Neurology and Psychiatry (США)
105. Archivio di psicologia, neurologia e psichiatria (Италия)
106. Archivio generale di neurologia, psichiatria e psicoanalisi (Италия)
107. Archivio internazionale di studi neurologici (Италия)
108. Archivos de criminologia, neuropsiquiatria y disciplinas conexas (Эквадор)
109. Archivos de neurobiologia (Испания)
110. Archivos de neuro-psiquiatria (Куба)
111. Archivos mexicanos de neurologia y psiquiatria (Мексика)
112. Archivos peruanos de higiene mental (Перу)
113. Archivos venezolanos de la sociedad de oto-rino-laringologia, oftalmologia, neurologia (Венесуэла)
114. Archivos venezolanos de psiquiatria y neurologia (Венесуэла)
115. Arquivos brasileiros de neuriaatria e pstiquiatria (Бразилия)
116. Arquivos brasileiros de psicologia aplicada (Бразилия)
117. Arquivos de neuropsiquiatria (Бразилия)
118. Arquivos do Departamento de asistencia a psicopatas do Estado de São Paulo (Бразилия)
119. Arquivos do Manicomio Judiciario Heltor Carrilho (Бразилия)
120. Arquivos do Servico nacional de doencas mentais (Бразилия)
121. Art and Psychotherapy (Великобритания)
122. Association for Research in Nervous and Mental Disease (США)
123. Behavior Science Research (США)
124. Behavioral and Brain Sciences (Великобритания)
125. Behavioral and Neural Biology (США)
126. Behavioral Biology (США)
127. Behavioral Engineering (США)
128. Behavioral Brain Research. An International Journal (Нидерланды)
129. Behavioral Science (США)
130. Behaviour (Нидерланды)
131. Behavioural Analysis and Modification (ФРГ)
132. Behavioural Processes (Нидерланды)

133. Biobehavioral Reviews (США)
134. Biological Psychiatry (США)
135. Biological Psychology (Нидерланды)
136. Biology of Brain Disfunction (США)
137. Boletín de higiene mental (Бразилия)
138. Boletín del Centro para el estudio de las neurosis (Куба)
139. Boletín del Departamento de higiene mental (Перу)
140. Boletín del Hospital neuropsiquiátrico provincial (Аргентина)
141. Boletín nacional de salud mental (Instituto Nacional de Salud Mental) (Аргентина)
142. Brain and Language (США)
143. Brain, Behavior and Evolution (Швейцария)
144. Brain. Journal of Neurology (Великобритания)
145. Brain Research (Нидерланды)
146. British Journal of Medical Hypnotism (Великобритания)
147. British Journal of Medical Psychology (Великобритания)
148. British Journal of Psychiatric Social Work (Великобритания)
149. British Journal of Psychiatry (Великобритания)
150. British Journal of Social and Clinical Psychology (Великобритания)
151. Bulletin de psychologie (Франция)
152. Bulletin of the British Psychological Society (Великобритания)
153. Bulletin of the Los Angeles Neurological Society (США)
154. Bulletin of Mental Health (Виргинские острова)
155. Bulletin of the Neurological Institute of New York (США)
156. Cahiers de psychiatrie (Франция)
157. Canadas Mental Health (Канада)
158. Canadian Psychiatric Association Journal (Канада)
159. Cefalea y temas medicos cubanos (Куба)
160. Cerebral Palsy Bulletin (Великобритания)
161. Cervello (Италия)
162. Československa neurologie (ЧССР)
163. Child's Brain (Швейцария)
164. Clinica anesthesiologica (Испания)
165. Clinical Neurology and Neurosurgery (Нидерланды)
166. Cognition. International Journal of Cognitive Psychology (Нидерланды)
167. Communications in Behavioral Biology. Section A. (США)
168. Communications in Behavioral Biology. Section B (США)
169. Communications in Psychopharmacology (Великобритания)
170. Comprehensive Psychiatry (США)
171. Conférences d'anesthésie et de réanimation (Франция)
172. Confinia neurologica (Швейцария)
173. Confinia psychiatrica (Швейцария)
174. Connexions. Psychosociologie sciences humaines (Франция)
175. Corrective and Social Psychiatry and Journal of Behavior Technology Methods and Therapy (США)
176. Cortex (Италия)
177. Deutsche Zeitschrift für Nervenheilkunde (Зап. Берлин)
178. Developmental Brain Research (Нидерланды)
179. Developmental Neuroscience (Швейцария)
180. Developmental Psychobiology. An International Journal (США)
181. Developmental Psychology (США)
182. Developmental Psychology Monograph (США)
183. Digest of Neurology and Psychiatry (США)
184. Diseases of the Nervous System (США)

185. *Dynamische Psychiatrie /Dynamic Psychiatry/* (Зап. Берлин)
186. *Educational Psychologist* (США)
187. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* (Канада)
188. *Encéphale* (Франция)
189. *Enkephalos* (Греция)
190. *Epilepsia* (Нидерланды)
191. *Epilepsia* (США)
192. *Epilepsia. Journal of the International League against Epilepsy* (Нидерланды)
193. *Etudes de nervo-psychopathologie infantile* (Франция)
194. *European Neurology* (Швейцария)
195. *Evolution psychiatrique* (Франция)
196. *Experimental Brain Research* (Зап. Берлин)
197. *Experimental Neurology* (США)
198. *Folia neuro-biologica* (ГДР)
199. *Folia psychiatrica* (Италия)
200. *Folia psychiatrica et neurologica japonica* (Япония)
201. *Folia psychiatrica, neurologica et neurochirurgica neerlandica* (Нидерланды)
202. *Fortschritte der Neurologie, Psychiatrie und ihrer Grenzgebiete* (ФРГ)
203. *Genetic Psychology Monographs* (США)
204. *Giornale de psichiatria e di neuropatologia* (Италия)
205. *Handbook of Clinical Neurology* (Нидерланды)
206. *Hygiene mentale* (Италия)
207. *Hygiene mentale* (Франция)
208. *Ideggyógyászati szemle* (ВНР)
209. *Illinois Psychiatric Journal* (США)
210. *Indian Journal of Neurology and Psychiatry* (Индия)
211. *Indian Journal of Psychiatry* (Индия)
212. *Information psychiatrie* (Франция)
213. *Informaciones psiquiátricas. San Baudiliode Llobegrat* (Испания)
214. *International Journal of Clinical and Experimental Hypnosis* (США)
215. *International Journal of Group Psychotherapy* (США)
216. *International Journal of Mental Health* (США)
217. *International Journal of Neurology* (Уругвай)
218. *International Journal of Neuropharmacology* (Великобритания)
219. *International Journal of Neuroscience* (Великобритания)
220. *International Journal of Psychology* (Нидерланды)
221. *International Journal of Social Psychiatry* (Великобритания)
222. *International Review of Neurobiology* (США)
223. *Jahrbücher für Psychiatrie und Neurologie* (Австрия)
224. *Jahresbericht über die Leistungen und Fortschritte auf dem Gebiete der Neurologie und Psychiatrie* (Зап. Берлин)
225. *Journal belge de neurologie et de psychiatrie* (Бельгия)
226. *Journal brasileiro de neurologia* (Бразилия)
227. *Journal brasileiro de psiquiatria* (Бразилия)
228. *Journal de neurologie et de psychiatrie* (Бельгия)
229. *Journal de neuroradiologie* (Франция)
230. *Journal de psychologie normale et pathologique* (Франция)
231. *Journal für Hirnforschung* (ГДР)
232. *Journal für Psychologie und Neurologie* (ГДР)
233. *Journal of Abnormal Psychology* (США)
234. *Journal of Affective Disorders* (Нидерланды)
235. *Journal of Behavior Therapy and Experimental Psychiatry* (Великобритания)
236. *The Journal of Biological Psychology* (США)
237. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* (США)
238. *Journal of Child Psychiatry* (США)

239. Journal of Child Psychology and Psychiatry (Великобритания)
240. Journal of Clinical and Experimental Hypnosis (США)
241. Journal of Clinical and Experimental Psychopathology and Quarterly Review of Psychiatry and Neurology (США)
242. The Journal of Clinical Psychiatry (США)
243. Journal of Clinical Psychopathology (США)
244. Journal of Comparative and Physiological Psychology (США)
245. Journal of Comparative Neurology (США)
246. Journal of Consulting and Clinical Psychology (США)
247. Journal of Counseling Psychology (США)
248. Journal of Cross-Cultural Psychology (США)
249. Journal of Experimental Learning and Simulation (США)
250. Journal of General Psychology (США)
251. Journal of Instructional Psychology (США)
252. Journal of Mental Deficiency Research (Великобритания)
253. Journal of Mental Science (Великобритания)
254. Journal of Mental Subnormality (США)
255. Journal of Nervous and Mental Diseases (США)
256. Journal of Neural Transmission (Австрия)
257. Journal of Neuro-Visceral Relations (Австрия)
258. Journal of Neurobiology. An International Journal (США)
259. Journal of Neurochemistry (Великобритания)
260. Journal of Neurocytology (Великобритания)
261. Journal of Neuroimmunology (Нидерланды)
262. Journal of Neurological (Нидерланды)
263. Journal of Neurological Sciences (Нидерланды)
264. Journal of Neurology (Зап. Берлин)
265. Journal of Neurology and Psychopathology (Великобритания)
266. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry (Великобритания)
267. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology (США)
268. Journal of Neurophysiology (США)
269. Journal of Neuropsychiatry (США)
270. Journal of Neuroscience Methods (Нидерланды)
271. Journal of Neuroscience Research (США)
272. Journal of Parapsychology (США)
273. Journal of Phenomenological Psychology (США)
274. Journal of Psychiatric Research (США)
275. Journal of Psychiatric Social Work (США)
276. Journal of Psycholinguistic Research (США)
277. Journal of Psychology (США)
278. Journal of Psychosomatic Research (Великобритания)
279. Journal of Receptor Research (США)
280. Journal of Social Therapy (США)
281. Journal of the All-India Institute of Mental Health (Индия)
282. Journal of the Philadelphia Psychiatric Hospital (США)
283. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry (Великобритания)
284. Lavoro neuropsichiatrico (Италия)
285. Maandblad voor de geestelijke volksgezondheid (Нидерланды)
286. Madjallen Behdasnt Ravany (Иран)
287. Magyar delorvosi archivum (ВНР)
288. Memory and Cognition (США)
289. Memory and Learning (США)
290. Mental Health (Великобритания)
291. Mental Health (Япония)
292. Mental Health Bulletin (США, Данвилл)

293. Mental Health Bulletin (США, Чикаго)
294. Mental Health in Virginia (США)
295. Mental Hospitals (США)
296. Mental Hygiene (США)
297. Mental Hygiene og Feikzhelse (Норвегия)
298. Merrill-Palmer Quarterly of Behavior and Development (США)
299. Minerva anesthesiologica (Италия)
300. Minerva medicopsicologica (Италия)
301. Minerva neurologica (Италия)
302. Monatsschrift für Psychiatrie und Neurologie (Швейцария)
303. Motivation and Emotion (США)
304. Multiple Sclerosis Abstracts (США)
305. Neopsichiatria (Италия)
306. Nervenarzt (Зап. Берлин)
307. Nervous Child (США)
308. Neuralmedizin (ФРГ)
309. Neurobiologia (Бразилия)
310. Neurochemical Research (США)
311. Neurochemistry International (Великобритания)
312. Neurochirurgia (ФРГ)
313. Neuroendocrinology Letters (Франция)
314. Neuroendocrinology (Швейцария)
315. Neurologia a psichiatrie československa (ЧССР)
316. Neurologia, neurochirurgia i psichiatria polska (ПНР)
317. Neurologia polska (ПНР)
318. Neurologia, psichiatria, neurochirurgia (ССР)
319. Neurological Research (США)
320. Neurologija (СФРЮ)
321. Neurology (Индия)
322. Neurology (США)
323. Neurone (Италия)
324. Neuronio (Бразилия)
325. Neuropädiatrie (ФРГ)
326. Neuropathology and Applied Neurobiology (Великобритания)
327. Neuropatologia polska (ПНР)
328. Neuropediatrics (ФРГ)
329. Neuropsychopharmacology (Великобритания)
330. Neuropsichiatria (Италия)
331. Neuropsychiatria (Швейцария)
332. Neuropsychiatrie de l'enfance et de l'adolescence (Франция)
333. Neuropsihijatrija (СФРЮ)
334. Neuropsychiatry. University of Virginia (США)
335. Neuropsychobiology (Швейцария)
336. Neuropsychologia (Великобритания)
337. Neuropsiquatria (Аргентина)
338. Neuroradiology (Зап. Берлин)
339. Neuroscience (Великобритания)
340. Neuroscience and Biobehavioral Reviews (США)
341. Neuroscience Letters (Нидерланды)
342. Neurosurgical Review (Зап. Берлин)
343. Neurotoxicology (США)
344. Nevrasse (Италия)
345. Nevrahe (Бельгия)
346. Nordisk psykiatrisk Medlemsblad (Дания)
347. Nordisk psykiatrisk Tidsskrift (Дания)

348. Noshinkei Ryoiki (Япония)
349. Note e riviste di psichiatria (Италия)
350. Noto Shinkei (Япония)
351. Nouvelle iconographie de la Salpêtrière (Франция)
352. Orvoskepzés (ВНР)
353. Ospedale psichiatrico (Италия)
354. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity (США)
355. Pawlow-Zeitschrift für höhere Nerventätigkeit (Зап. Берлин)
356. Personnel Psychology (США)
357. Pharmacology, Biochemistry and Behavior (США)
358. Pharmakopsychiatrie (ФРГ)
359. Pharmakopsychiatrie-Neuro-Psychopharmakologie (ФРГ)
360. Philippine Journal of Psychology (Филиппины)
361. Physiological Psychology (США)
362. Physiology and Behavior (Великобритания)
363. Pisani Giornale di patologia nervosa e mentale (Италия)
364. Polish Psychological Bulletin (НР)
365. Praktische Psychiatrie (Швейцария)
366. Praxis der Kinderpsychologie und Kinderpsychiatrie (ФРГ)
367. Praxis der Psychomotorik (ФРГ)
368. Proceeding of the American Psychopathological Association (США)
369. Professional Psychology (США)
370. Progress in Neurobiology (США)
371. Progress in Neurology and Psychiatry (США)
372. Progress in Psychotherapy (США)
373. Psychiatria et neurologia (Швейцария)
374. Psychiatria et neurologia japonica (Япония)
375. Psychiatria, neurologia, neurochirurgia (Нидерланды)
376. Psychiatria polska (ПНР)
377. Psychiatric Bulletin (США)
378. Psychiatric Quarterly (США)
379. Psychiatric Research Reports of the American Psychiatric Association (США)
380. Psychiatrie de l'enfant (Франция)
381. Psychiatrie, Neurologie und medizinische Psychologie (ГДР)
382. Psychiatrisch-neurologische Wochenschrift (ГДР)
383. Psychiatrische en neurologische bladen (Нидерланды)
384. Psychiatry (США)
385. Psychiatry Research. An International Journal for Rapid Communication (Нидерланды)
386. Psychologia (Япония)
387. Psychologia africana (ЮАР)
388. Psychologica belgica (Бельгия)
389. Psychological Medicine (Великобритания)
390. Psychological Record (США)
391. Psychological Reports (США)
392. Psychological Research (Зап. Берлин)
393. Psychologie française (Франция)
394. Psychologie médicale (Франция)
395. Psychology (США)
396. Psychometrika (США)
397. Psychoneuroendocrinology (Великобритания)
398. Psychopharmacology Bulletin (США)
399. Psychopharmacology Communications (США)
400. Psychopharmakologie (Зап. Берлин)
401. Psychophysiologie (ФРГ)

402. Psychosomatic Medicine (США)
403. Psychosomatics (США)
404. Psychotherapie (Швейцария)
405. Psychotherapy (Индия)
406. Psychotherapy and Psychosomatics (Швейцария)
407. Pszichológiai tanulmányok (ВНР)
408. Pagine di neurologia vegetativa (Италия)
409. Rassegna di neuropsichiatria (Италия)
410. Rassegna di studi psichiatrici (Италия)
411. Research Communication Psychology, Psychiatry and Behavior (США)
412. Research Publications Association for Research in Nervous and Mental Disease (США)
413. Revue roumaine de médecine. Série neurologie et psychiatrie (СРР)
414. Review of Neurology and Psychiatry (Великобритания)
415. Revista argentina de neurologia, psiquiatria y medicina (Аргентина)
416. Revista argentina de neurologia y psiquiatria (Аргентина)
417. Revista brasileira de saúde mental (Бразилия)
418. Revista chilena de neuro-psiquiatria (Чили)
419. Revista de neurologia clinica (Испания)
420. Revista de neurologia e psiquiatria de São Paulo (Бразилия)
421. Revista de neurologia, psiquiatria e higiena mental (Мексика)
422. Revista de neuro-psiquiatria (Перу)
423. Revista de psicologia normal e patologica (Бразилия)
424. Revista de psiquiatria (Чили)
425. Revista de psiquiatria del Uruguay (Уругвай)
426. Revista de psiquiatria y criminologia (Аргентина)
427. Revista de psiquiatria y disciplinas conexas (Перу)
428. Revista de psiquiatria y psicologia medica de Europe y America Latinas (Испания)
429. Revista de psychologie (СРР)
430. Revista del Hospital Psiquiatrico de la Habana (Куба)
431. Revista española de neuropsiquiatria infantil (Испания)
432. Revista española de oto-neuro-oftalmologia y neurocirurgia (Испания)
433. Revista latinoamericana de psiquiatria (Аргентина)
434. Revue de Centre neuropsychiatrique (Бельгия)
435. Revue de neuropsychiatrie infantile (Франция)
436. Revue de neuropsychiatrie infantile et d'hygiene mentale de l'enfance (Франция)
437. Revue de psychologie appliquée (Франция)
438. Revue neurologique (Франция)
439. Revue roumaine de neurologie (СРР)
440. Revue roumaine de neurologie et de psychiatrie (СРР)
441. Rivista di neurobiologia (Италия)
442. Rivista di neurologia (Италия)
443. Rivista di neurologia, medicina, chirurgia (Италия)
444. Rivista di neuropsichiatria e scienze affini (Италия)
445. Rivista di patologia nervosa e mentale (Италия)
446. Rivista di psichiatria (Италия)
447. Rivista di psicopatologia, neuropsichiatria e psicoanalisi (Италия)
448. Rivista oto-neuro-oftalmologica (Италия)
449. Rivista sperimentale di freniatria medicina legale delle alienazioni mentale (Италия)
450. Saskatchewan Psychiatric Services Journal (Канада)
451. Sbornik Pedagogické fakulty v Plzni. Pedagogika—psychologie (ЧССР)
452. Schweizer Archiv für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie (Швейцария)
453. Schweizer Archiv für Neurologie und Psychiatrie (Швейцария)

454. Seishin Igaky (Япония)
455. Seishin Shinkeigaky Zaashi (Япония)
456. Shinkel Kenkyu no Shinpo (Япония)
457. Sistema nervosa (Италия)
458. Sleep (США)
459. South African Journal of Psychology (ЮАР)
460. Studia psychologica (СССР)
461. Studia psychologiczne (ПНР)
462. Studies in Psychology and Psychiatry (США)
463. Studii și cercetări de neurologie (ССР)
464. Surgical Neurology (США)
465. Topical problems of Psychotherapy (Швейцария)
466. Transactions of All-India Institute of Mental Health (Индия)
467. Transactions of the American Neurological Association (США)
468. Trends in Neurosciences (Нидерланды)
469. Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Seria psychologia—pedagogika (ПНР)
470. Wiener Archiv für Psychologie, Psychiatrie und Neurologie (Австрия)
471. Wiener Zeitschrift für Nervenheilkunde und deren Grenzgebiete (Австрия)
472. World Journal of Psychosynthesis (США)
473. World Mental Health (Великобритания)
474. World Neurology (США)
475. The Year Book of Anesthesia (США)
476. Zdrowie psychiczne (ПНР)
477. Zeitschrift für Entwicklungspsychologie und pädagogische Psychologie (ФРГ)
478. Zeitschrift für experimentelle und angewandte Psychologie (ФРГ)
479. Zeitschrift für individual Psychologie (ФРГ)
480. Zeitschrift für Kinderpsychiatrie (Швейцария)
481. Zeitschrift für Neurologie (ФРГ)
482. Zeitschrift für Parapsychologie und Grenzgebiete der Psychologie (ФРГ)
483. Zeitschrift für Psychologie (ГДР)
484. Zeitschrift für psychosomatische Medizin (ФРГ)
485. Zeitschrift für psychosomatische Medizin und Psychoanalyse (ФРГ)
486. Zeitschrift für Psychotherapie und medizinische Psychologie (ФРГ)
487. Zeitschrift für Tierpsychologie (Зап. Берлин)
488. Zentralblatt für die gesamte Neurologie und Psychiatrie (Зап. Берлин)
489. Zentralblatt für Neurochirurgie (ГДР)
490. Zentralblatt für Verkehrs-Medizin, Verkehrs-Psychologie, Luft und Raumfahrt-Medizin (ФРГ)

THE LIST OF INTERNATIONAL AND NATIONAL PERIODICALS AND SERIALS ON NEUROSCIENCES

BELIK Ya. V.

Palladin's Institute of Biochemistry, Ukrainian SSR Academy of Sciences, Kiev

The list of publications on neuroscience includes 490 international and national periodicals and serials from 42 countries. It embraces journals, annuals and other volumes, that publish reviews, experimental, clinical and methodological articles covering all branches of neuroscience.

This list clearly demonstrates that in the family of biological sciences neuroscience is of special importance.

Институт биохимии им. А. В. Палладина
АН УССР, Киев

Поступила 11.III 1982

УДК 56.13:617.9

РЕЦЕНЗИИ

Г. С. ХАЧАТРЯН. *Биохимия нуклеиновых кислот и высшие функции головного мозга*. Ереван, Айастан, 332 с., 1981.

Монография проф. Г. С. Хачатряна посвящена одному из наиболее актуальных вопросов функциональной биохимии головного мозга—корреляции метаболизма рибонуклеиновых кислот в головном мозгу в условиях разных функциональных состояний последнего при различных «естественных физиологических воздействиях». В книге, охватившей наряду с современными литературными данными (литературные ссылки доведены приблизительно до конца 70-х гг.) обширный собственный экспериментальный материал автора и его сотрудников, Г. С. Хачатрян детально изложил важнейшие аспекты участия превращений РНК в клетках головного мозга в осуществлении его функциональной активности. Несомненной заслугой автора является представление материала исторически—читателю дана возможность проследить за становлением современных концепций, критически оценить их значимость и степень обоснованности на базе имеющихся фактических данных.

Прежде, чем перейти к основному материалу, Г. С. Хачатрян логично подводит к нему читателя во введении и I—III главах, излагая краткие основы молекулярно-биологического подхода к изучению головного мозга, общие сведения по химии и биохимии ДНК и РНК (их структуры, биосинтеза и участия в биосинтезе белков—трансляции), наконец, некоторые методические приемы в изучении различных классов РНК и активности в головном мозгу ферментов, участвующих в их метаболизме. Следующие IV—VI главы посвящены ядерной, рибосомной и транспортной РНК головного мозга «при естественных физиологических воздействиях»—возбуждении и торможении ЦНС, в динамике условно-рефлекторных процессов, обучении, явлениях памяти. В остальных разделах монографии (главах VII—IX) автор должное внимание уделил интересной и важной проблеме механизма регуляции превращений РНК. Так, рассмотрены вопросы путей регуляции активности РНК-полимераз и особенно активности ДНК-зависимой РНК-полимеразы в мозгу при различных его функциональных состояниях, возможной роли нейропептидов в регуляции биосинтеза нуклеиновых кислот. Автор всесторонне, прежде всего на основе результатов многочисленных собственных исследований, выполненных в последние годы, сделал критический разбор, касающийся количественной характеристики различных классов РНК головного мозга при действии циклических нуклеотидов и S-аденозил-L-метионина—агента, являющегося эффективным донатором метильных групп, в частности для метилирования различных участков в молекуле нуклеиновых кислот, стабилизируя их и/или создавая их специфическую конформацию, необходимую для селективного взаимодействия с соответствующими белками.

Монография заканчивается обширным общим заключением, которое отнюдь не служит повторением уже высказанных автором суждений, а представляет творческое обобщение фактического материала, имея при этом самостоятельное значение в качестве обзора современных положений о регуляции молекулярных механизмов памяти и других высших функций головного мозга. Автор затронул и фундаментальные проблемы природы систем, как блокирующих, так и служащих триггером для активности генов, а также механизмов регуляции эпигенетических систем. Нельзя не

согласиться с Г. С. Хачатряном в том, что «механизм регуляции биосинтеза ядерных РНК в мозгу под влиянием возбуждения и торможения ЦНС, вызванных естественными физиологическими воздействиями, нельзя рассматривать в отрыве от всей интегральной деятельности ЦНС и внутриклеточной медиаторной роли различных индукторов, ингибиторов, в том числе и циклических нуклеотидов» (с. 274). Автор выдвигает весьма ответственное, но в общем во многом согласующееся с описанными им литературными данными и комплексом фактов, установленных самим Г. С. Хачатряном, заключение о возможности того, что именно РНК, но не ДНК, имеют особое значение в процессах обучения и памяти.

Достоинство книги Г. С. Хачатряна заключается в том, что он заострил в ней ряд важных вопросов, разрешение которых еще предстоит в дальнейших исследованиях; автором подчеркнуты и многие неясности в некоторых относительно укоренившихся положениях.

Несомненно, что рецензируемая монография представляет собой существенный вклад в функциональную нейрохимию и вызовет большой интерес со стороны биохимиков и физиологов широкого профиля.

ДЕМИН Н. Н.

G. S. Khatchatrian. Biochemistry of nucleic acids and higher functions of the brain. Yerevan, Hajastan, 332 p., 1981
Reviewed by Doemin N. N.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

1. В журнале публикуются статьи, содержащие ранее не опубликованные результаты экспериментальных исследований по биохимии нервной системы, обзоры по важнейшим вопросам современной нейробиологии, рецензии на новые издания и актуальная научная хроника. Объем рукописи (включая резюме, список литературы и иллюстрации) не должен превышать 15 с., напечатанных на машинке через 2 интервала. Объем обзоров не более 20 с., кратких сообщений, рецензий и хроники 4 с., а писем в редакцию—2 с. Рукопись статьи должна подписываться всеми авторами (2 экз.) и сопровождаться актом экспертизы (2 экз.) и направлением от учреждения.

2. Перед каждой статьей, кроме кратких сообщений, должно быть напечатано краткое резюме (через 1,5 интервала) объемом не более 0,5 с., которое должно отражать цель и основные результаты работы. Ко всем статьям без исключения на отдельном листе прилагается тот же текст на английском языке.

Экспериментальные статьи должны быть разбиты на разделы: материалы и методы, результаты и обсуждение, литература. Иногда более целесообразным являются разделы—результаты исследований и обсуждение результатов. В кратких сообщениях выделять указанные разделы не следует. Заглавие статьи должно быть ясным, кратким и информативным. Под заглавием следует указать фамилии и инициалы авторов, а в правом верхнем углу над ним индекс универсальной десятичной классификации (УДК).

3. Список литературы составляется в порядке цитирования. Все ссылки печатаются на машинке на языке оригинала через 1,5 интервала. В тексте ссылки даются в квадратных скобках. Цитируемая литература в списке приводится в следующем порядке: порядковый номер, фамилия и инициалы авторов на языке оригинала, название журнала, том, номер или выпуск, страницы, год издания. В случае сплошной нумерации страниц тома номер выпуска не указывать. При цитировании книги указывается также под чьей редакцией она издана, название издательства и место издания.

Под списком литературы слева указывается полное название учреждения, в котором выполнена работа, а справа—дата ее поступления в редакцию.

4. Таблицы должны иметь заголовки, нумерацию и не превышать размера печатной страницы. Каждая таблица печатается на отдельном листе. Сокращение слов за исключением общепринятых в таблицах не разрешается. Необходимо указывать достоверность данных.

Рисунки, отчетливо выполненные тушью на плотной белой бумаге или кальке, представляются в конверте в двух экземплярах. На обороте каждого рисунка карандашом следует указать фамилии авторов, сокращенное название статьи и порядковый номер, для фотографии (на глянцевой бумаге) обозначить ее верх и низ. Подписи к рисункам и фотографиям представляются на отдельном листе.

5. В приложении к правилам для авторов, которое публикуется в каждом номере нашего журнала, приводится список наиболее часто употребляемых сокращенных обозначений, разрешаемых применять без специальной расшифровки. Используемые авторами другие сокращенные слова при первом упоминании даются полностью и в скобках в сокращенном виде. Фамилии иностранных авторов даются на языке оригинала.

6. Редакция имеет право сокращать и исправлять текст статьи, не изменяя ее основного содержания.

7. Редакция высылает автору второй экземпляр отредактированной рукописи для ознакомления и доработки. В случае возврата статьи для исправления датой поступления ее в редакцию считается день поступления исправленного текста.

8. Корректуру авторам редакция не высылает.

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Тигранян Р. А., Кветнянски Р.</i> Регуляция метаболизма катехоламинов в гипоталамусе крыс в условиях космического полета	221
<i>Кричевская А. А., Шугалей В. С., Кленикова В. А., Ломакина Л. В., Лосева С. П.</i> Ядерные белки нейронов и глиицитов в двигательной зоне коры мозга крыс при акклимации к холоду	231
<i>Нечаева Г. А., Лопатина Н. Г.</i> Влияние обучения на активность кислой и щелочной рибонуклеаз и ингибитора последней в субклеточных фракциях головного мозга крыс	237
<i>Априкян Г. В., Мкртчян Г. А., Паронян Ж. А.</i> Субклеточное распределение амидных групп белков мозга при старении	243
<i>Турова Н. Ф., Барышников В. А.</i> К вопросу о влиянии антенатальной гипоксии на региональное распределение фонда свободных аминокислот в постнатальном онтогенезе мозга крыс	249
<i>Эмиров Э. З.</i> Влияние гипотермии на поглощение аминокислот срезами мозга	254
<i>Промыслов М. Ш., Смирнов А. В., Аюлян А. С.</i> Регуляция обмена гликогена мозга при черепно-мозговой травме	261
<i>Шаров А. Н., Козлов Н. Б.</i> Влияние перегревания и защитного действия инола на окислительное фосфорилирование в митохондриях мозга крыс	269
<i>Берман А. Л., Азимова А. М.</i> Локализация и механизмы АТР-зависимого транспорта кальция в фоторецепторах (палочках) сетчатки позвоночных	275

Краткие сообщения

<i>Горошинская И. А., Броницкая З. Г., Кричевская А. А., Карабухина Е. Г.</i> Активность и субстратная специфичность моноаминооксидаз мозга крыс в условиях гипоксии	282
<i>Арутюнян А. В., Кочарян М. Г.</i> Дезаминирование АМР и аденозина в хромаффинной ткани	287

Обзоры

<i>Аорова Н. Ф.</i> О роли ганглиозидов в дифференцировке нервных клеток и синаптической передаче нервного импульса	290
---	-----

Библиографическая информация

<i>Белик Я. В.</i> Перечень международных и национальных периодических и продолжающихся изданий по нейронаукам	303
--	-----

Рецензии

<i>Демин Н. Н. Г. С. Хачатрян.</i> Биохимия нуклеиновых кислот и высшие функции головного мозга	313
---	-----

CONTENTS

<i>Tigranian R. A., Kvetnansky R.</i> Regulation of catecholamine metabolism in rat hypothalamus during space flight	221
<i>Krtchevskaya A. A., Shugaley V. S., Klenikova V. A., Lomakina L. V., Loseva S. P.</i> Nuclear proteins of neurons and gliocytes from rat brain cortex motor zone in the course of cold acclimation	231
<i>Nechaeva G. A., Lopatina N. G.</i> Effects of learning and pseudolearning on the activity of acid and alkaline ribonuclease and on the alkaline ribonuclease inhibitor in rat brain hemispheres subcellular fractions	237
<i>Aprikian G. V., Mkrtchian G. A., Paronian J. A.</i> Subcellular distribution of protein amide nitrogen of brain in senescence	243
<i>Turova N. F., Baryshnikov V. A.</i> Effect of antenatal hypoxia on the regional distribution of free amino acids in rat brain in the course of postnatal ontogenesis	249
<i>Emirbekov E. Z.</i> Effect of hypothermia on the uptake of amino acids by brain slices	254
<i>Promyslov M. Sh., Smirnov A. V., Akopyan A. S.</i> Cranio-cerebral injury and brain glycogen metabolism	261
<i>Sharov A. N., Kozlov N. B.</i> Influence of hyperthermia on oxidative phosphorylation in rat brain mitochondria and protective effect of ionol	269
<i>Berman A. L., Azimova A. M.</i> Localization and mechanisms of ATP-dependent transport of calcium in retinal rods of vertebrates	275

Short communications

<i>Goroshinskaya I. A., Bronovitskaya Z. G., Krtchevskaya A. A., Karabuhina E. G.</i> Effect of hypoxia on the activity and substrate specificity of rat brain monoamine oxidases	282
<i>Harutjunian A. V., Kochartan M. G.</i> AMP and adenosine deamination in chromaffin tissue	287

Reviews

<i>Avrova N. F.</i> On the role of gangliosides in nervous cell differentiation and in synaptic transmission	230
--	-----

Bibliographic information

<i>Belik Ya. V.</i> The list of international and national periodicals and serials on neurosciences	303
---	-----

Book reviews

<i>Doemin N. N. G. S. Khachatryan.</i> Biochemistry of nucleic acids and higher functions of the brain	313
--	-----