

Р. А. ТИГРАНЯН, А. В. СМИРНОВ

ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ МИТОХОНДРИЙ МОЗГА  
И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ЕЕ РЕГУЛЯЦИИ

Настоящее исследование посвящено изучению состояния процессов окислительного фосфорилирования в митохондриях, выделенных из различных отделов головного мозга кроликов (кора больших полушарий, мозжечок, ствол). Для суждения о механизме некоторых возможных функциональных и структурных изменений митохондрий мозга исследования проводились при закрытой черепно-мозговой травме. Были изучены способность митохондрий регулировать скорость дыхания в зависимости от присутствия в среде акцепторов фосфата («дыхательный контроль»), оптическая плотность митохондрий, т. е. способность митохондрий к набуханию, а также ультраструктура митохондрий методом электронной микроскопии.

Опыты проводили на кроликах-самцах серой масти весом от 2,5 до 2,8 кг. Дозированную черепно-мозговую травму наносили по описанной нами ранее методике [3]. Митохондриальную фракцию выделяли последовательным центрифугированием [7], чистоту фракций контролировали с помощью электронной микроскопии. Интенсивность дыхания определяли методом Варбурга. Применяли инкубационную смесь с альфа-кетоглутаровой кислотой в качестве субстрата окисления в концентрации 0,013 М [5]. Убыль неорганического фосфора определяли по методу Эннора и Розенберг [6]. Полученные данные выражали в микроатомах (мкат) поглощенного кислорода и эстерифицированного фосфора на мг белка за 1 ч. Белок определяли по методу Лоури и сотрудников [8]. «Дыхательный контроль» (ДК) рассчитывали как отношение количества поглощенного кислорода в полной инкубационной среде к количеству поглощенного кислорода в среде, где отсутствуют акцепторы фосфата (АДФ и система гексокиназа+глюкоза). Оптическую плотность митохондрий регистрировали спектрофотометрически [4]; полученные данные выражали в процентах убыли оптической плотности каждой пробы за 45 мин.

Было изучено также влияние стимулирующих или тормозящих деятельность центральной нервной системы веществ на течение исследованных процессов. В качестве агентов, стимулирующих или тормозящих деятельность центральной нервной системы, применяли соответственно фенамин (0,6 мг/кг) и смесь уретана (400 мг/кг) с вероналом (30 мг/кг). Указанные агенты вводили подопытным животным однократно на 5-й мин. с момента нанесения черепно-мозговой травмы.

Таблица 1

Окислительное фосфорилирование и дыхательный контроль\* в митохондриях головного мозга интактных и травмированных животных (субстрат окисления—альфа-кетогутаровая кислота).  
ΔO и ΔP в мкатомах/мг белка/час

Форма опыта	К о р а					М о з ж е ч о к					С т в о л				
	ΔO		ΔP	P/O	ЛК	ΔO		ΔP	P/O	ЛК	ΔO		ΔP	P/O	ЛК
	с АДФ	без АДФ				с АДФ	без АДФ				с АДФ	без АДФ			
Контроль	2,43±0,09	0,85±0,04	7,23±0,31	2,97±0,02	2,86±0,07	4,69±0,14	1,69±0,08	13,99±0,47	2,98±0,02	2,78±0,07	2,00±0,04	0,78±0,03	6,18±0,16	3,08±0,03	2,56±0,05
Травма	2,93±0,04 p<0,01	2,82±0,03 p<0,001	2,09±0,04 p<0,001	0,71±0,02 p<0,001	1,04±0,004 p<0,001	5,53±0,05 p<0,001	5,45±0,06 p<0,001	4,15±0,11 p<0,001	0,74±0,02 p<0,001	1,01±0,004 p<0,001	2,42±0,04 p<0,001	2,29±0,04 p<0,001	1,73±0,04 p<0,001	1,72±0,02 p<0,001	1,06±0,004 p<0,001
Травма+фена- мин	2,36±0,09 p>0,5	0,84±0,04 p>0,5	7,00±0,28 p>0,05	2,96±0,02 p>0,5	2,81±0,03 p>0,5	4,97±0,10 p>0,1	1,74±0,05 p>0,5	14,93±0,27 p>0,1	3,00±0,03 p>0,5	2,86±0,04 p>0,2	2,14±0,05 p>0,05	0,78±0,04 p>0,5	6,64±0,13 p>0,05	3,10±0,02 p>0,5	2,77±0,10 p>0,05
Травма+уре- тан	2,75±0,09 p<0,05	2,83±0,04 p<0,001	1,59±0,09 p<0,001	0,57±0,02 p<0,001	0,97±0,02 p<0,001	5,40±0,10 p<0,01	5,35±0,04 p<0,001	3,01±0,09 p<0,001	0,55±0,01 p<0,001	1,01±0,03 p<0,001	2,45±0,18 p<0,05	2,30±0,06 p<0,001	1,42±0,12 p<0,001	0,58±0,01 p<0,001	1,06±0,06 p<0,001

Исследования проводились через 1 ч. с момента нанесения травмы, так как нами было установлено, что именно в эти сроки наблюдается максимальное разобщение процессов окислительного фосфорилирования [3]. Вначале были исследованы интенсивность процессов окислительного фосфорилирования и способность к ДК в митохондриях, выделенных из различных участков мозга интактных животных. Полученные величины коэффициента Р/О и ДК (табл. 1) свидетельствуют о наличии достаточно высокой сохранности биохимических свойств исследованных нами препаратов митохондрий мозга.

При черепно-мозговой травме, как видно из представленных данных (табл. 1), наблюдается резкое нарушение интенсивности процессов окислительного фосфорилирования в митохондриях всех исследованных участков мозга. Интенсивность поглощения кислорода митохондриями возрастает по сравнению с таковой в митохондриях мозга интактных животных примерно на 20%, однако особенно значительные изменения при травме претерпевают процессы фосфорилирования, интенсивность которых во всех исследованных отделах мозга резко понижена (в 3,4 раза) по сравнению с таковой в мозгу интактных животных. Такое состояние процессов дыхания и фосфорилирования в митохондриях мозга при травме, естественно, приводит к значительному понижению сопряженности этих процессов — величина коэффициента Р/О в митохондриях разных образований мозга примерно в 4 раза меньше по сравнению с таковой в митохондриях мозга интактных животных (табл. 1).

Черепно-мозговая травма приводит также к значительным изменениям в величине ДК. Интенсивность поглощения кислорода митохондриями всех исследованных отделов мозга в среде, где отсутствуют акцепторы фосфата, значительно увеличивается (более чем в 3 раза) по сравнению с таковой в митохондриях мозга интактных животных и достигает того же уровня, который отмечается в полной инкубационной среде (табл. 1). Это свидетельствует о том, что при травме отсутствует способность митохондрий мозга регулировать интенсивность дыхания в зависимости от наличия в среде акцепторов фосфата, т. е. ДК исчезает.

При введении травмированным животным фенамина наблюдается следующая картина. Интенсивность поглощения кислорода митохондриями всех исследованных образований мозга не отличается от таковой в митохондриях мозга интактных животных. В то же время отмечается резкое увеличение интенсивности процессов фосфорилирования до уровня, который порой даже превышает уровень этих процессов в митохондриях мозга интактных животных. Такое изменение интенсивности процессов окислительного фосфорилирования приводит к нормализации их сопряженности (табл. 1).

Введение травмированным животным фенамина сопровождается также восстановлением способности митохондрий мозга регулировать скорость дыхания в зависимости от присутствия в среде системы акцепторов фосфата. Величина ДК при этом довольно высокая и не отличается от таковой в митохондриях мозга интактных животных (табл. 1).

В то же время введение травмированным животным смеси уретана с вероналом незаметно сказывается на интенсивности исследованных процессов в митохондриях всех исследованных отделов мозга, т. е. отмечается резкое нарушение интенсивности процессов окислительного фосфорилирования при одновременном исчезновении ДК (табл. 1). Аналогичная картина была получена в серии опытов по исследованию процессов окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга с янтарной кислотой в качестве субстрата окисления.

В дальнейшем нами была исследована оптическая плотность суспензий митохондрий различных образований мозга интактных и опытных животных для суждения о структурном состоянии митохондрий.

Как видно из представленных данных (табл. 2), черепно-мозговая травма сопровождается значительным повышением способности митохондрий мозга к набуханию (в 1,5 раза). Интересно, что введение травмированным животным фенамина приводит к нормализации способности митохондрий всех исследованных образований мозга к набуханию, в то время как при введении травмированным животным снотворной смеси способность митохондрий мозга к набуханию не отличается от таковой в митохондриях мозга при травме без дополнительных вмешательств (табл. 2).

Таблица 2  
Способность митохондрий мозга к набуханию

Форма опыта	Кора	Мозжечок	Ствол
Контроль	10,7±0,18	10,2±0,27	10,1±0,18
Травма	16,2±0,18 p<0,001	15,7±0,27 p<0,001	16,2±0,13 p<0,001
Травма+фенамин	10,3±0,27 p>0,2	9,9±0,22 p>0,2	10,0±0,18 p>0,5
Травма+уретан	16,8±0,13 p<0,001	16,2±0,22 p<0,001	16,5±0,18 p<0,001

Исследование ультраструктуры митохондрий мозга дало следующие результаты.

Электронномикроскопическое исследование митохондрий, выделенных из коры больших полушарий мозга интактных кроликов, свидетельствует о сохранности ультраструктуры митохондрий (рис. 1).

Исследование митохондрий, выделенных из коры больших полушарий мозга травмированных животных, дало следующую картину (рис. 2). Имеется значительное набухание митохондрий, увеличение их объема, нарушение внутренней структуры митохондрий, нарушение правильной ориентации и целостности крист митохондрий, дезорганизация внутренней мембраны, в отдельных случаях наблюдаются разрывы наружной мембраны. Следует отметить, что наряду с патологически изменен-

ными митохондриями при травме находили и интактные митохондрии, однако патологические митохондрии преобладали.

Как видим, черепно-мозговая травма сопровождается нарушением ультраструктуры митохондрий.



Рис. 1. Ультраструктура митохондрий, изолированных из коры больших полушарий мозга интактного кролика (увеличение — 40.000).



Рис. 2. Ультраструктура митохондрий, изолированных из коры больших полушарий мозга травмированного кролика через 1 час после травмы (увеличение — 36.000).

Указанные изменения митохондрий мозга не специфичны именно для черепно-мозговой травмы, они наблюдаются при травматическом и турникетном шоках [1], при судорожных состояниях различной этиологии [2] и т. д.

Что же касается ультраструктуры митохондрий, выделенных из коры больших полушарий травмированных животных, получивших пос-

ле травмы фенамин, можно отметить тенденцию в сторону нормализации ультраструктуры митохондрий уже через 1 ч. после травмы.

Следует отметить, что вышеописанные изменения ультраструктуры митохондрий характерны не только для митохондрий, выделенных из коры больших полушарий. Такого же характера изменения отмечаются также и в митохондриях мозжечка и стволовой части мозга.

Таким образом, нарушение сопряженности процессов окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга при черепно-мозговой травме сопровождается исчезновением ДК, а также нарушением структуры митохондрий, их набуханием. При этом введение травмированным животным фенамина приводит к нормализации интенсивности процессов окислительного фосфорилирования и восстановлению способности митохондрий мозга к ДК при одновременной нормализации структуры митохондрий мозга, что находит свое выражение также и в нормализации способности митохондрий мозга к набуханию.

Результаты настоящего исследования вскрывают важную роль функционального состояния центральной нервной системы в регуляции энергетической функции митохондрий мозга.

Институт нейрохирургии  
АМН СССР

Поступило 10/1 1969 г.

Բ. Հ. ՏԻԳՐԱՆՅԱՆ, Ա. Վ. ՍՄԻՐՆՈՎ

ՈՒՂԵՂԻ ՄԻՏՈՆԻՈՆԻԴԻԱՆԵՐԻ ԷՆԵՐԳԵՏԻԿ ՖՈՒՆԿՑԻԱՆ ԵՎ ՆՐԱ  
ԿԱՐԳԱՎՈՐՄԱՆ ՀՆԱՐԱՎՈՐ ՈՒՂԻՆԵՐԸ

Ա մ փ ո փ ու մ

Էլեկտրոնային միկրոսկոպիայի մեթոդով հետազոտված են գլխուղեղային փակ վնասվածքների ժամանակ օբսիդացող ֆոսֆորիլացման պրոցեսները միտոխոնդրիաներում, որոնք անշատված են գլխուղեղի տարբեր բաժիններից, ինչպես նաև միտոխոնդրիաների ընդունակությունը «շնչառական ստուգիչ» նկատմամբ, նրանց օպտիկական խտությունը և ուտրակառուցվածքը: Ցույց է տրված, որ օբսիդացող ֆոսֆորիլացման պրոցեսների համագործակցության խանգարումը ուղեղի միտոխոնդրիաներում, վնասվածքի դեպքում ուղեկցվում է «շնչառական ստուգիչ» վերացմամբ, ինչպես նաև միտոխոնդրիաների ուտրակառուցվածքի խանգարմամբ՝ նրանց ուղեկցով: Ֆենամինի ներարկումը վնասվածքի ենթարկված կենդանիներին՝ կարգավորում է հետազոտված ցուցանիշները:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Панченко Л. Ф., Боголепов Н. Н. Доклады АН СССР, 1965, 160, 1401.
2. Петров В. С., Комкова А. И., Горюхина О. А. Нервная система, 1966, 7, 51.
3. Проmysлов М. Ш., Тигранян Р. А. Вопросы медицинской химии, 1964, 10, 205.
4. Cleland K. W. Nature, 1952, 170, 497.
5. Dahl D. R., Samson F. E. Amer. J. Physiol., 1959, 196, 470.
6. Ennor A., Rosenberg H. Biochem. J., 1952, 50, 524.
7. Fonyo A., Somogyi J. Acta Physiol. Acad. Sci. Hung., 1960, 18, 191.
8. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Rendall H. J. Biol. Chem., 1951, 193, 265.