

УДК 612.43:612.015.33

Д. Н. ХУДАВЕРДЯН, А. Т. ТАТЕВОСЯН

СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ НЕЙРОАКТИВНЫХ АМИНОКИСЛОТ В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ МОЗГА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОПАРАТИРЕОЗЕ

На белых крысах с экспериментальным гипопаратиреозом проведено сравнительное изучение содержания ГАМК, аспарагиновой и глутаминовой кислот в коре головного мозга, гипоталамусе и спинном мозге. Установлено значительное, по сравнению с нормой, понижение их содержания в исследуемых отделах мозга с повышением количества глутамата в коре и гипоталамусе и ГАМК в коре головного мозга.

Полученные результаты свидетельствуют о нарушении процессов торможения и возбуждения на различных уровнях центральной нервной системы.

Аминокислоты, являясь источником образования белков и различных физиологически активных веществ, принимают существенное участие в метаболических процессах. Особое место при этом отводится глутаминовой и аспарагиновой кислотам, которые, будучи связанными с циклом трикарбоновых кислот, обменом жиров и белков, занимают исключительно важное место в метаболизме головного мозга и поддержании его функциональной активности. В последние годы выполнено много работ по выяснению их роли в деятельности нервной системы, причем большинство авторов считает, что они имитируют возбуждение [13—15, 17], хотя в литературе имеются сведения о их влиянии на тормозные механизмы [21]. Уместно отметить, что продукт декарбоксилирования глутаминовой кислоты — гамма-аминомасляная кислота — оказывает на центральные и периферические нервные образования выраженное тормозное действие [15, 18, 19, 21].

Многочисленными исследованиями [1, 8, 9, 11, 12] показано изменение уровня свободных аминокислот в тканях при различных физиологических и патологических состояниях организма. В свете этих исследований представляет значительный интерес изучение содержания нейроактивных аминокислот в различных отделах мозга, особенно в спинном мозге, при экспериментальном гипопаратиреозе — состоянии, характеризующемся тетанией, повышенной нервно-мышечной возбудимостью, серьезными обменными и трофическими расстройствами. Необходимость подобного исследования не вызывает сомнения, т. к. оно даст возможность косвенно судить о состоянии процессов торможения и возбуждения в различных отделах ЦНС и тем самым приблизиться к объяснению некоторых механизмов, лежащих в основе двигательных расстройств, наблюдаемых при гипопаратиреозе.

Методика

Эксперименты проводились на белых крысах весом 150—200 г. Гипопаратиреоз вызывался электрокоагуляцией околотитовидных желез. О развившемся гипопаратиреозе судили по уровню Ca^{++} в сыворотке крови, определяемого фотометрически, а также общему поведению животного, состоянию нервно-мышечной возбудимости и т. д. Опыты ставились на 6—8-й дни после операции на фоне понижения уровня Ca^{++} в сыворотке крови. К указанному сроку содержание кальция снижалось с $8,5 \pm 0,29$ до $5,48 \pm 0,28$. Определение содержания исследуемых аминокислот проводилось электрофоретическим методом, предложенным Гроссманом и соавт. [20], в пиридиано-ацетатном буфере (8,0 пиридина, 30 мл ледяной уксусной кислоты, до 1 л дистиллированной воды) в аппарате высоковольтного электрофореза при напряжении 1000—1250 в, силе тока 2,5—3 ма на ленту, длительности разделения 1,5—2 часа. Полученные электрофореграммы перед проявлением тщательно высушивались. Исследуемые аминокислоты проявляли 0,5% раствором нингидрина в ацетоне 20-минутной экспозицией при 80°C. Участки фореграммы с пятнами аминокислот разрезали на кусочки и элюировали в отдельности в 5 мл 0,005% спиртового раствора сернокислой меди в темноте в течение одного часа при периодическом встряхивании. Определение аминокислот в элюате производилось спектрофотометрическим методом при длине волны 530. Параллельно с опытными пробами на отдельную полоску бумаги наносили известную концентрацию раствора определяемых аминокислот и обрабатывали с другими электрофореграммами. Элюат, полученный при этом из пятен, служил стандартом при фотометрии.

Результаты и обсуждение

Результаты статистической обработки полученного материала представлены в таблице. Как видно из данных таблицы, содержание ГАМК, глутаминовой и аспарагиновой кислот в различных отделах мозга ин-

Содержание ГАМК, аспарагиновой и глутаминовой кислот в

Серия опыта	Спинной мозг		
	ГАМК	глутамат	аспартат
Контроль $M \pm m$	$135 \pm 9,55$	$616,6 \pm 21,9$	$181,6 \pm 9,3$
Гипопаратиреоз $M \pm m$	$70,0 \pm 4,02$	$453,3 \pm 25,3$	$136,6 \pm 6,06$
Р	$<0,001$	$<0,01$	$<0,01$

тактных крыс неодинаково. Наибольшее содержание указанных кислот обнаружено в гипоталамусе (за исключением глутаминовой кислоты), затем в коре головного мозга (за исключением ГАМК) и спинном мозге, что, по всей видимости, говорит о неодинаковой их значимости в дея-

тельности различных уровней центральной нервной системы. У животных с экспериментальным гипопаратиреозом обнаружены значительные изменения в содержании нейроактивных аминокислот во всех исследуемых отделах мозга, причем эти изменения носят неоднозначный характер. Так, в коре головного мозга при достоверном повышении содержания ГАМК (32,7%) и недостоверном повышении количества глутаминовой кислоты (4,9%) происходит значительное понижение уровня аспарагиновой кислоты (45,7%). В гипоталамусе выявлены иные показатели: на фоне существенного повышения содержания глутаминовой кислоты (35,1%) происходило весьма значимое падение количественных показателей аспарагиновой (49,9%) и гамма-аминомасляной (25,6%) кислот.

На наш взгляд, весьма интересными надо признать результаты опытов по исследованию нейроактивных аминокислот в спинном мозге — сегментарном звене, осуществляющем координацию двигательных актов. Обнаруженное в опытах понижение уровня ГАМК на 48,2, аспартата на 24,8 и глутамата на 26,5% свидетельствует о существенном нарушении обменных, а соответственно тормозных и возбуждательных процессов в спинном мозге. Если исходить из имеющихся литературных данных о способности глутамата и аспартата имитировать возбуждение [13—15, 17], а ГАМК — торможение [15, 18, 19, 21], то полученные данные можно расценивать как факт, указывающий на ослабление на спинальном уровне как тормозных, так и возбуждательных процессов. В то же время значительное, по сравнению с другими аминокислотами, понижение содержания ГАМК (48,2%) — признанного тормозного медиатора — позволяет предположить, что тормозной процесс, по сравнению с возбуждательным, страдает в большей мере. Это допущение находит свое подтверждение и в тех исследованиях [21], в которых установлен тормозной характер влияния как ГАМК, так и глутаминовой и аспарагиновой кислот на нейроны ракообразных, причем тот факт, что все они активируют каналы для хлора и эффект их блокируется пикротоксином, позволил авторам предположить идентичность механизмов их тормозного действия как в организме ракообразных, так и высших животных. Известно,

Таблица

мкг/г ткани в различных отделах мозга крыс при гипопаратиреозе

Гипоталамус			К о р а		
ГАМК	глутамат	аспартат	ГАМК	глутамат	аспартат
410,6±28,2	664±27,3	391,5±26,08	91,6±6,79	903,3±56,8	285±13,09
305,6±16,21 <0,02	907,5±29,4 <0,01	196,1±10,4 <0,001	121,6±3,03 <0,01	948,3±68,5 >0,01	155,0±10,2 <0,001

что ГАМК на уровне спинного мозга в основном локализован в заднем роге и оказывает непосредственное влияние на пресинаптическое торможение [22]. Следовательно, можно допустить, что в условиях экспериментального гипопаратиреоза, при котором значительно уменьшается

содержание ГАМК в спинном мозге, в первую очередь страдают пресинаптические тормозные механизмы, ограничивающие афферентный вход импульсов на подступах к мотонейронам. Возможно, что одной из причин обнаруженного нами в предварительных опытах улучшения эфферентного выхода спинного мозга является ослабление на сегментарном уровне процессов пресинаптического торможения. Усиление эфферентного выхода спинного мозга обнаружено Г. Н. Крыжановским и соавт. [5] при столбнячной интоксикации и Л. М. Гольбером с соавт. [2] при тиреотоксикозе, характеризующимися ослаблением тормозных процессов на спинальном уровне [3, 6, 10, 16].

Уменьшение в гипоталамусе ГАМК и увеличение глутаминовой кислоты можно рассматривать как адаптивный механизм, приводящий через повышение возбудимости гипоталамических структур к активации ГГНС и мобилизации приспособительных возможностей организма. Некоторые затруднения возникают при интерпретации данных, полученных на уровне головного мозга, хотя они совпадают с исследованиями Л. Е. Захария [4], установившей при повышенной судорожной готовности крыс увеличение ГАМК в полушариях мозга и уменьшение ее в стволовых структурах, что автор склонен причислить к факторам, обуславливающим повышенную предрасположенность организма к судорожным реакциям. Повышение судорожной готовности крыс при гипопаратиреозе установлено исследованиями Л. В. Крушинского с соавт. [7].

Не вызывает сомнения, что в основе обнаруженных при гипопаратиреозе сдвигов в содержании исследуемых нейроактивных аминокислот лежат нарушения обменного характера. То обстоятельство, что указанные аминокислоты тесно связаны с циклом трикарбоновых кислот, позволяет допустить, что при экспериментальном гипопаратиреозе нарушаются те лимитирующие звенья цикла Кребса, которые в норме приводят к образованию аспартата, глутамата и ГАМК. В частности, уменьшение аспарагиновой кислоты может быть связано или с уменьшением количества щавелевоуксусной кислоты—основного исходного субстрата образования аспартата, или же нарушением активности тех ферментов, которые способствуют переходу щавелевоуксусной и глутаминовой кислот в аспарагиновую. Аналогичное допущение можно сделать и в отношении возможных причин, лежащих в основе изменений в содержании глутамата, а соответственно и ГАМК.

Полученные нами данные позволяют допустить, что обнаруженные при экспериментальном гипопаратиреозе количественные сдвиги в содержании ГАМК, глутаминовой и аспарагиновой кислот являются следствием нарушения обменных процессов и могут привести к нарушению процессов торможения и возбуждения как на сегментарном, так и на супраспинальном уровне.

Դ. Ն. ԽՈՒԴԱՎԵՐԴՅԱՆ, Ա. Ք. ԹԱԴԵՎՈՍՅԱՆ

ՈՐՈՇ ՆԵՅՐՈԱԿՏԻՎ ԱՄԻՆՈԹԹՈՒՆԵՐԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆՆ
ՈՒՂԵՂԻ ՏԱՐԲԵՐ ՀԱՏՎԱԾՆԵՐՈՒՄ ՓՈՐՁԱՌԱԿԱՆ
ՀԻՊՈՊԱՐԱԹԻՐԵՆՈՋԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ա. մ. փ. n. փ. n. i. մ

Հիպոպարաթիրեոզի պայմաններում ուսումնասիրվել է սպիտակ առնետ-ների ուղեղի կեղևային մասում, հիպոթալամում և ողնուղեղում գլուտամինաթթվի, ասպարադինաթթվի և ԳԱԿԹ-ի քանակական տեղաշարժերը: Պարզվել է, որ հիպոպարաթիրեոզի պայմաններում ուղեղի կեղևային մասում և հիպոթալամում գլուտամինաթթվի քանակությունը շատանում է, իսկ ԳԱԿԹ-ի քանակությունն ավելանում է ուղեղի կեղևային մասում: Ուղեղի մնացած մասերում ամինոթթվների քանակությունն իջնում է:

Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ նշված պայմաններում կենտրոնական ներվային համակարգի տարբեր հատվածներում դրսևան և արգելակման պրոցեսները խանգարվում են:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бунятян Г. Х. В кн.: Обмен аминокислот. Тбилиси, 1967, стр. 85.
2. Гольбер Л. М., Гайдина Г. А., Игнатков В. Я. Бюлл. exper. биол. и мед., 1971, 8, стр. 18.
3. Гольбер Л. М., Гайдина Г. А., Игнатков В. Я. ДАН СССР, 1971, 196, 4, стр. 987.
4. Захария Л. Е. Предрасположенность организма к эпилептическим припадкам. Киев, 1974, стр. 149.
5. Крыжановский Г. Н., Дьяконова М. В. Бюлл. exper. биол. и мед., 1964, 9, стр. 12.
6. Крыжановский Г. Н. Столбняк. М., 1966.
7. Крушинский Л. В., Молодкина Л. Н., Кицковская И. А. Бюлл. exper. биол. и мед., 1950, 30, 8, стр. 136.
8. Мирзоян С. А., Татевосян А. Т. Журнал exper. и клинич. медицины АН Арм. ССР, 1975, т. XV, 5, стр. 6.
9. Ройтбак А. И. В кн.: Роль ГАМК в деятельности нервной системы. Л., 1964, стр. 66.
10. Свердлов Ю. С. Физиол. журнал СССР, 1960, т. XLVI, 8, стр. 941.
11. Сытинский И. А. В кн.: Роль ГАМК в деятельности нервной системы. Л., 1964, стр. 36.
12. Хачатрян Г. С. Биохимия головного мозга при нормальных физиологических условиях. Ереван, 1967.
13. Bennett J. P., Mulder A. H., Snyder S. H. Life Sci, 1974, 15, 6, 1045.
14. Bennett J. P., Logan W. J., Snyder S. H. J. Neurochem., 1973, 21, 6, 1533.
15. Bowery M. G., Brown D. A. Brit. J. Pharmacol., 1974, 50, 2, 205.
16. Brooks V. B., Curtiss D. R., Eccles J. C. J. Physiol., 1957, 135, 655.
17. Duggan A. W., Johnston G. A. J. Neurochem., 1970, 17, 1205.
18. Elliott K. A. C. Rev. Canad. biol., 1958, 17, 367.
19. Florey F., McLennan H. J. Physiol., 1956, 120, 446.
20. Grossman W., Hannina K. E., Plockt M. J. Physiol. chem., 1955, 299, 258.
21. Koidl B., Florey E. Comp. Biochem. and Physiol., 1975, 51, 1, 13.
22. Mluata Y., Otsuka M. J. Neurochem., 1975, 25, 3, 239.