

ИЗМЕНЕНИЕ ЗАХВАТА C^{14} -ГАМК В СРЕЗАХ КОРЫ И ГИПОТАЛАМУСА МОЗГА В РАЗЛИЧНЫЕ СРОКИ ГИПОКИНЕЗИИ

С.Д.Барсегян, В.П.Акопян, В.А.Кнарян, Л.Н.Аракелян

*/Ереванский государственный медицинский университет
им. М.Гераци, кафедра фармакологии/
375025 Ереван, ул. Корюна, 2*

Ключевые слова: гипокинезия, ГАМК, высокоаффинный захват, кора, гипоталамус

В настоящее время установлено, что ограничение двигательной активности приводит к существенному нарушению деятельности центральной нервной системы (ЦНС). В этой связи изучение механизма синаптической передачи нервного импульса при гипокинезии приобретает особое значение. За последние годы значительно возрос интерес к изучению синаптической активности гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), являющейся медиатором торможения [5]. Следует отметить, что в разных отделах головного мозга 30–50% синаптических контактов приходится на долю одной только ГАМК [6].

Известно, что наиболее эффективным средством терминации синаптического действия, а также регуляции внеклеточного уровня нейромедиаторных аминокислот является и их обратный захват из синаптической щели нервными окончаниями и клетками глии [7].

В доступной нам литературе отсутствуют данные относительно роли высокоаффинного захвата ГАМК при различных патологических состояниях, в частности при гипокинезии.

Целью настоящего исследования явилось выявление особенностей высокоаффинного захвата ГАМК при ограничении двигательной активности.

Материал и методы

Для создания условий гипокинезии животных (белые крысы-самцы массой 200–230г) помещали в специальные индивидуальные клетки-пе-

налы. Эксперименты проводились на интактных животных и на 15-, 30-, 45- и 60-е сутки гипокинезии.

Животных декапитировали, извлекали мозг, на холоде очищали большие полушария от капилляров и помещали их в ледяной раствор 0,15M NaCl. Приготовление срезов коры и гипоталамуса мозга проводили на льду:

Определение высокоаффинного захвата C^{14} -ГАМК проводили по методу Непп, Hamberger [8] в инкубационной смеси, содержащей 10^{-5} M немеченую ГАМК, 0,05мкК/мл C^{14} -ГАМК, 10^{-5} M аминоксиуксусную кислоту (АОУК) в качестве ингибитора трансаминирования. На каждую пробу брали по 10мг срезов коры или гипоталамуса. Объем инкубационной смеси доводили до 1мл средой поглощения. В качестве среды поглощения использовали модифицированный буфер Кребса-Генселяйта, в состав которого входят трис-буфер (рН=7,4) — 25, NaCl — 127,2, KCl — 5, CaCl — 1,3, глюкоза — 11,1мМ.

Пробы инкубировали, затем центрифугировали для осаждения ткани при 4000об/мин при температуре 40С° в течение 15 мин. Надосадочную жидкость отделяли. Осадок промывали, переносили во флаконы с 5мл сцинтилляционной жидкости Брея. Радиоактивность измеряли на счетчике "Intertechnique".

Степень захвата ГАМК выражали отношением величины *имп/мин/мг* среза к величине *имп/мин/мкл* среды поглощения. Обработку полученных результатов проводили методом вариационной статистики Фишера-Стьюдента.

В работе использованы трис (гидроксиаминометан), ГАМК, АОУК фирмы "Sigma" (США) и C^{14} -ГАМК с удельной радиоактивностью 12,5мКи/ммоль (Венгрия).

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что инкубация срезов коры и гипоталамуса мозга при 37°С в течение 25 мин приводит к весьма активному поглощению ГАМК. При этом величина интенсивности захвата ГАМК в срезах коры и гипоталамуса интактных животных составляет $11,38 \pm 0,175$ и $10,86 \pm 0,2$ *имп/мин/мг* среза / *имп/мин/мкл* среды соответственно.

В ранние сроки гипокинезии (на 15-е сутки) интенсивность захвата как в срезах коры, так и гипоталамуса резко снижается, составляя $6,25 \pm 0,23$ и $8,52 \pm 0,31$ *имп/мин/мг* среза / *имп/мин/мкл* среды соответственно.

Литературные данные свидетельствуют, что ограничение двигательной активности в течение первых 15 дней не вызывает заметных морфологических изменений в головном мозге, большинство клеток которого сохраняет свою обычную структуру [3]. В то же время наблюдается заметное изменение обменных процессов [4], которое в свою очередь вы-

зывает нарушение функциональной деятельности нервной системы. Так, резко страдает условно-рефлекторная деятельность животных — ослабевают основные корковые процессы.

Очевидно, полученные нами данные о резком снижении интенсивности захвата ГАМК в срезах коры (на 45%) и гипоталамуса (на 22%) в указанный период отражают картину ГАМК-ергической синаптической передачи на стадии терминации этого процесса при изменении обмена веществ.

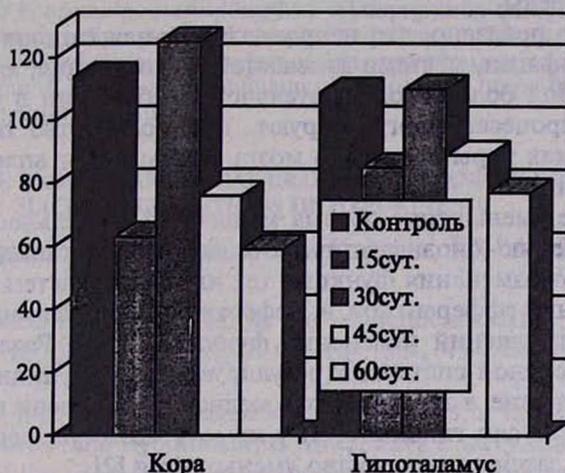


Рис. Захват ^{14}C -ГАМК в срезах коры полушарий и гипоталамуса мозга крыс в различные сроки гипокинезии (имп/мин/мг среза / имп/мин/мл среды)

Необходимо отметить, что на 30-е сутки гипокинезии интенсивность захвата ГАМК повышается, достигая в срезах гипоталамуса уровня интактных животных, а в срезах коры даже несколько превышая (на 10%) контрольный показатель, составляя $11,03 \pm 0,4$ и $12,55 \pm 0,3$ имп/мин/мг среза / имп/мин/мл среды соответственно.

В условиях гипокинезии одновременно с развитием нарушения функций, как правило, возникают и определенные компенсаторные механизмы, направленные на устранение возникающих нарушений или на их ослабление. Нам представляется, что восстановление уровня захвата ГАМК в коре и гипоталамусе должно быть направлено против развития чрезмерной адаптации к гипокинезии.

На основании имеющихся в литературе сведений о гиперплазии и гипертрофии клеток олигодендроглии и микроглии в течение первого месяца гипокинезии [3], с одной стороны, и уникальной способности клеток глии аккумулировать ГАМК [7], с другой, можно допустить, что усиление захвата ГАМК срезами в указанный период обусловлено также активным участием глии в этом процессе.

Однако уже к 45-му дню эксперимента интенсивность захвата ГАМК как в срезах коры, так и гипоталамуса вновь ослабевает, составляя $7,64 \pm 0,31$ и $8,9 \pm 0,31$ *имп/мин/мг среза / имп/мин/мкл среды* соответственно.

Дальнейшее пребывание животных в условиях гипокинезии (60-е сутки) приводит к более выраженному снижению уровня захвата C^{14} -ГАМК, при этом величина интенсивности захвата в срезах коры составляет $5,89 \pm 0,31$, а в срезах гипоталамуса — $7,71 \pm 0,37$ *имп/мин/мг среза / имп/мин/мкл среды*

Ранее было показано, что непродолжительная гипокинезия вызывает явления нейрофагии, местами замечается вакуолизация, хроматолиз нейроцитов [1]. При более продолжительном пребывании в условиях гипокинезии эти процессы прогрессируют. Так, количество тигроидного вещества в клетках коры головного мозга уменьшается вплоть до полного его исчезновения.

Длительное уменьшение объема мышечной деятельности приводит к резкому снижению биоэнергетических затрат в организме, вследствие чего возникают изменения функций тех или иных систем и органов. Резкое уменьшение афферентной и эфферентной импульсации включает в общую цепь нарушений изменения функций ЦНС. Развивается общая астенизация нервной системы и регулируемых ею функций. Наблюдается также истощение и центрального медиаторного звена в тканях мозга. Так, в первый месяц гипокинезии у крыс в мозге увеличивается содержание ГАМК, затем ее количество уменьшается [2].

Таким образом, полученные нами данные достоверно указывают на то, что длительная гипокинезия (45 и 60 дней) вызывает существенные изменения в системе высокоаффинного захвата тормозного медиатора ГАМК в коре и гипоталамусе мозга белых крыс. Кроме того, отмечается вполне определенная стадийность нарушений в функционировании системы захвата. Вначале это снижение уровня захвата в условиях стресса, затем его восстановление вследствие адаптации и, наконец, постепенное снижение ввиду истощения ряда функций и, прежде всего, резкого угнетения деятельности ЦНС.

Наблюдая динамику изменения уровня захвата ГАМК на разных стадиях гипокинезии, можно заметить, что в срезах коры и гипоталамуса уровень захвата изменяется в значительной степени по-разному: в коре, по сравнению с гипоталамусом, наблюдается более резкое уменьшение интенсивности захвата, особенно на стадиях ранней и поздней гипокинезии.

Поступила 01.02.96

**С¹⁴-ԳԱԿԹ-ի ՀԵՏԱԳԱՐՉ ԿԼԱՆՄԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ
ԳԼԽՈՒՂԵՂԻ ԿԵՂԵՎՈՒՄ ԵՎ ՀԻՊՈԹԱԼԱՄՈՒՍՈՒՄ
ՄԱԿԱՎԱՅԱՐԺՈՒԹՅԱՆ ՏԱՐՔԵՐ ԺԱՄԿԵՏՆԵՐՈՒՄ**

Ս.Դ.Բարսեղյան, Վ.Պ.Հակոբյան, Վ.Հ.Զնարյան, Լ.Ն.Արակելյան

Մայիտակ առնետների գլխուղեղի կեղևում եւ հիպոթալամուսում ուսումնասիրված է ¹⁴C-ճանաչող ԳԱԿԹ-ի Na⁺-կախյալ հետադարձ կլանման կրած փոփոխությունները 15-, 30-, 45-, 60-օրյա տեւողութեամբ սակավաշարժութեան պայմաններում:

Բացահայտված է, որ սակավաշարժութեան տեւողութեանը զուգընթաց ԳԱԿԹ-ի հետադարձ կլանումը ենթարկվում է խորը փոփոխությունների, որոնք ունեն փոփոխյին բնույթ, ընդ որում սակավաշարժութեան ուշ շրջանում գլխուղեղի կեղևում նկատվում է հետադարձ կլանման իմտենսիվութեան առավել կտրուկ անկում, քան հիպոթալամուսի կտրվածքներում:

CHANGES OF THE GABA UPTAKE IN RAT BRAIN CORTEX AND HYPOTHALAMUS SLICES IN CONDITIONS OF HYPOKINESIA

S.D.Barsegian, V.P.Hakopian, V.H.Knarian, L.N.Arakelian

There were studied the changes in the Na⁺-dependent GABA uptake of rat brain cortex and hypothalamus slices in the 15-, 30-, 45-, 60days' periods of hypokinesia.

It was observed that the hypokinesia leads to changes in the GABA uptake both in the brain cortex and hypothalamus which have a wavy character.

The decrease of the GABA uptake in the brain cortex slices in later period of hypokinesia is expressed in a greater extent than in hypothalamus.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аюпян В.П., Канаян А.С., Геворкян Г.А., Мелконян К.В. Фармакол. и токсикол., 1993, 5, с.47.
2. Балян Л.С., Барсегян С.Д. Материалы рабочего совещания по междисциплинарной научной программе "Мозговое кровообращение". СПб., 1995, с.2.
3. Лобзин В.С., Михайленко А.А., Панов А.Г. В кн: Клиническая нейрофизиология и патология гипокинезии. Л., 1979, с.123.
4. Федоров И.В. В сб.: Изменение метаболизма у животных при гипокинезии. Ярославль, 1984, с. 162.
5. Curtis D.R., Johnston G.A.R. Amino acid Transmitters in the mammalian central nervous system. *Ergebn. Physiol.*, 1974, 69, 94.
6. Do Nascimento Y.L.M., deMello F.G. Induced release of aminobutyric acid by a carrier-mediated high-affinity uptake of L-glutamate in cultured chick retina cells. *J.Neurochem.*, 1985, 45, 6, 1820.
7. Hamberger A., Henn F.A. Some aspects of the differential biochemistry and functional relationships between neurons and glia:--In: Metabolic compartmentation in the brain. (ed. Balazs R., Gremer J.E.), 1971, 305.
8. Henn F. A., Hamberger A. Glial cell function: uptake of transmitter substances. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1971, 68, 11, 2686.