



НАКОПЛЕНИЕ Ca^{2+} СИНАПТОСОМАМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ ДЕПОЛЯРИЗАЦИИ В ДИНАМИКЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЛЕГКОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

*БОНДАРЬ О. И., МАТЫШЕВСКАЯ О. П., ВАСИЛЬЕВ А. Н.

Киевский государственный университет; *НИИ нейрохирургии МЗ УССР, Киев

Одной из важных задач нейрохимии является изучение на субклеточном уровне биохимических механизмов наблюдаемых посттравматических расстройств метаболизма мозга для разработки адекватных и эффективных методов лечения [1, 2]. Удобным объектом для изучения функциональной активности нервной клетки, метаболических и транспортных процессов и их нарушений являются синапсосомы. При повышении внеклеточной концентрации K^+ усиливается поглощение Ca^{2+} синапсосомами [3] и, как следствие этого, высвобождаются нейромедиаторы [3, 4]. Настоящая работа посвящена изучению процесса поступления Ca^{2+} в синапсосомы в условиях их деполяризации хлористым калием в динамике экспериментальной черепно-мозговой травмы (ЧМТ).

В работе использовали кроликов-самцов массой 2,5—3 кг, содержащихся на стандартном рационе вивария. Экспериментальную ЧМТ наносили, пользуясь аппаратом Лукьянова [5]. Во всех опытах экспериментальную ЧМТ вызывали импульсом одинаковой силы. Обычно удар сопровождался тоническими разгибаниями головы и туловища, подергиваниями конечностей. Через 15 мин, 2 ч, 3, 7 и 14-суток после нанесения экспериментальной ЧМТ животных декапитировали, большие полушария и ствол гомогенизировали 85 ходами пестика в ручном гомогенизаторе (стекло/тефлон). Синапсосомы получали по методу Hajos [6], подвергали их электронно-микроскопическому анализу [7] и использовали в течение 2—3 ч после выделения. Поглощение Ca^{2+} синапсосомами определяли в среде инкубации объемом 0,5 мл, содержащей (в мМ): имидазол- HCl —20, рН 7,3, MgCl_2 —1, глюкозу—10, KCl —5, NaCl —135, CaCl_2 —1, $^{45}\text{CaCl}_2$ (10^{-6} Бк), 200 мкг белка (среда А). Деполяризацию синапсосом вызывали добавлением в среду инкубации 80 мМ KCl и 60 мМ NaCl (среда Б). Через 5 мин инкубацию останавливали на фильт-

рах Сунрог-6 («Сhemарол», ЧССР). Радиоактивность фильтров определяли на радиоспектрометре «Delta-300» (США). Во всех случаях радиоактивность Ca^{2+} при нулевом времени инкубации вычитали из величин, полученных при инкубации в определенные промежутки времени. Концентрацию белка определяли по методу Lowry и соавт. [8]. Статистическую обработку данных проводили с использованием t -критерия Стьюдента [9].

Таблица

Накопление Ca^{2+} синапсами головного мозга кроликов в динамике экспериментальной черепно-мозговой травмы

Время после нанесения травмы	Полушария головного мозга		Ствол головного мозга	
	среда А Ca^{2+} , нмоль/мг белка	среда Б	среда А Ca^{2+} , нмоль/мг белка	среда Б
Контроль	5,40±1,90	10,27±1,40	4,86±0,46	6,26±0,94
15 мин	5,83±0,44	6,17±0,48*	8,37±1,54*	7,74±0,54
2 ч	4,46±1,71*	3,72±1,36	5,79±2,88	4,75±1,28
3 суток	2,59±0,86*	3,96±0,78*	3,21±0,17*	2,60±0,71*
7 суток	6,77±2,79	7,07±2,09	5,73±1,24	6,19±0,15
14 суток	7,10±1,40	8,29±0,87	7,00±0,07*	8,47±1,39

Примечание. * $p < 0,05$.

Согласно полученным данным, в контроле накопление Ca^{2+} синапсами характеризуется насыщением, которое достигается через 5 мин после начала инкубации. Уровень накопления Ca^{2+} в препаратах синапсом, полученных из больших полушарий и ствола мозга кроликов в контроле статистически значимо не отличаются (таблица). Повышение концентрации K^+ в среде инкубации вызывает изменение знака потенциала на мембране нервной клетки [10]. В этих условиях было установлено, что накопление Ca^{2+} возрастает в 2 и 1,5 раза в препаратах, полученных из полушарий и ствола мозга кроликов соответственно. Таким образом, используемые в работе препараты синапсом обладали функциональной активностью, сопоставимой с описанной в ряде работ [3, 11, 12].

В условиях экспериментальной легкой ЧМТ накопление Ca^{2+} препаратами синапсом из мозга кроликов и регуляция процесса деполяризации, вызванной K^+ , существенно нарушаются. Способность синапсом, полученных из мозга травмированных кроликов, аккумулировать Ca^{2+} изменялась фазно в зависимости от периода после нанесения экспериментальной ЧМТ и отдела головного мозга. Так, через 3 суток после экспериментальной ЧМТ накопление Ca^{2+} синапсами полушарий мозга кроликов уменьшается в 2 раза по сравнению с контролем (таблица). В более длительные периоды (7 и 14 суток) после травмы величина уровня накопления Ca^{2+} препаратами нестимулированных синапсом полушарий восстанавливалась и даже несколько превышала контрольный уровень.

Чувствительность препаратов синапсом полушарий мозга к деполяризующему действию K^+ также подвержена нарушению в динамике экспериментальной ЧМТ. При добавлении K^+ наблюдается повышение поглощения Ca^{2+} синапсами полушарий головного мозга контрольных

животных. K^+ -зависимое поглощение Ca^{2+} снижается через 15 мин после экспериментальной легкой ЧМТ, а в более отдаленные периоды достоверно не отличается от величин поглощения Ca^{2+} синапсосомами полушарий головного мозга в среде А при сравнении данных по срокам.

Аналогичные фазные изменения в работе механизма, ответственного за поддержание равновесной концентрации Ca^{2+} , происходит и в препаратах синапсосом, выделенных из ствола головного мозга кроликов в динамике экспериментальной ЧМТ. Уровень накопления Ca^{2+} нестимулированными синапсосомами ствола мозга повышается по сравнению с контролем в 1,7 раза через 15 мин после нанесения травмы, а снижается максимально через 3 суток после травмы, как и в случае синапсосом полушарий мозга, и имеет тенденцию к увеличению по сравнению с контролем в более отдаленные периоды.

При добавлении K^+ в среду инкубации синапсосом ствола мозга кроликов нам не удалось выявить изменений в поглощении Ca^{2+} в средах А и Б в сроки от 15 мин до 14 суток после нанесения экспериментальной легкой ЧМТ.

Результаты исследования позволяют сделать вывод о том, что в динамике экспериментальной ЧМТ происходит поражение механизмов, ответственных за поддержание равновесной концентрации Ca^{2+} в синапсосомах полушарий и ствола мозга кроликов и поступления в них Ca^{2+} через плазматическую мембрану за счет деполяризации. Обнаруженные изменения уровня накопления Ca^{2+} препаратами синапсосом изученных отделов головного мозга кроликов носят фазный характер. Полученные результаты могут указывать на существенные посттравматические изменения в трансмембранном поступлении Ca^{2+} в нервные окончания из внешней среды, что может быть одним из факторов нарушения регуляции метаболических процессов в мозгу после легкой ЧМТ.

Ca^{2+} UPTAKE BY RABBIT BRAIN SYNAPTOSOMES IN DEPOLARIZING MEDIA DURING HEAD INJURY.

BONDAR O. I., MATYSHEVSKAYA O. P., VASILIEV A. N.

State University, Kiev

Ca^{2+} uptake by synaptosomes from hemispheres and trunk of rabbit brain during 14 days after head injury has been studied. Disorders in the Ca^{2+} uptake from Na^+ and K^+ rich media were detected throughout the entire period of observation and were most pronounced during 3 days after the injury.

ЛИТЕРАТУРА

1. Промыслов М. Ш. Обмен веществ в мозге и его регуляции при черепно-мозговой травме, М., Медицина, 1984.
2. Гельфанд В. Б., Маламуд М. Д., Истратов В. Г. Замкнутая черепно-мозговая травма, Кишинев, Штиница, 1986.

3. *Blaustein M. P.* J. Physiology, v. 247, p. 617—655, 1975.
4. *Глебов Р. Н., Крыжановский Г. Н.* Функциональная биохимия синапсов, М., Медицина, 1978.
5. *Лукьянов Т. Т.* Рационализаторские предложения и изобретения в медицине, Киев, 1975.
6. *Hajos F.* Brain Res., v. 93, p. 485—489, 1975.
7. *Ромоданов А. П., Копьев О. В.* Вестн. Акад. мед. наук, СССР, № 12, с. 19—25, 1984.
8. *Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J.* J. Biol. Chem., v. 193, p. 265—275, 1951.
9. *Плохинский Н. А.* Математические методы в биологии, М., МГУ, 1978.
10. *Baker P. F.* Federat. Proc., v. 35, p. 2589—2595, 1976.
11. *Кравцов Г. М., Рязский Г. Г., Орлов С. Н.* Биохимия, т. 47, с. 2006—2013, 1982.
12. *Goddard G. A., Robinson J. D.* Brain Res., v. 110, p. 331—350, 1976.

Поступила 17. III. 1987

Д. Лодж. Медиаторные аминокислоты у здоровых и больных, 320 с. 1988.

D. Lodge. Excitatory aminoacids in health and disease. Biological Council Symposia on Drug Action. J. Wiley and Sons Ltd, Baffins Lane, England, 320 p. 1988.

Значительные успехи достигнуты в настоящее время в выяснении роли модуляторных аминокислот в синаптической передаче. Это произошло в результате открытия фармакологических приемов, позволивших сочетать изучение рецепторов и связанных с ними ионных каналов с новой биохимической, электрофизиологической и бихевиористской методологией. Теперь уже известно, что нарушения нормального функционирования медиаторных аминокислот могут привести к слуховым поражениям, ненормальному поведению, конвульсивным состояниям и дегенерации постсинаптических нейронов. Все это представляет несомненный интерес для понимания природы и терапии психозов, конвульсивных расстройств и нервнодегенеративных заболеваний. Участники вышеуказанного симпозиума выступили с сообщениями о последних достижениях в этой области. Тематика симпозиума охватывала четыре главных направления исследований по медиаторным аминокислотам—фармакологическую характеристику их рецепторов, механизм их действия в качестве транмиттеров, взаимодействие лекарственных препаратов, а также использование этих веществ для коррекции поведенческих реакций и их клиническое применение.