

УДК 547.466.3+616.831.31+616.831.4

ВЛИЯНИЕ ГИПОКИНЕЗИИ НА ЗАХВАТ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ АМИНОКИСЛОТ В СРЕЗАХ КОРЫ И ГИПОТАЛАМУСА МОЗГА КРЫС

С.Д.Барсегян, А.С.Канаян, В.А.Кнарян, Л.Н.Аракелян

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

Ключевые слова: гипокинезия, нейромедиаторные аминокислоты, высокоаффинный захват, кора, гипоталамус

В настоящее время установлено, что гипокинезия вызывает перенапряжение нервной системы, которое в свою очередь приводит к различным морфофункциональным изменениям в ней [1,3,5,10,13].

При гипокинезии происходит снижение оптимального уровня афферентной импульсации, являющегося одним из условий нормального функционирования нервной системы [3]. При этом наблюдается дезинтеграция в деятельности соответствующих нервных центров [7]. Исходя из этого изучение механизмов передачи нервного импульса при гипокинезии приобретает особое значение.

В связи с важной ролью высокоаффинного захвата нейромедиаторных аминокислот (НМА) в синаптической передаче [8] выявление особенностей этого процесса при гипокинезии стало предметом настоящего исследования.

Целью данного исследования явилось изучение высокоаффинного захвата глутаминовой (ГК) и аспарагиновой (АК) кислот при ограничении двигательной активности.

Материал и методы

Для создания условий гипокинезии животных (белые крысы-самцы массой 200–230 г) помещали в специальные индивидуальные клеточки-пеналы. Эксперименты проводили на интактных животных 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 0,15 М NaCl. Приготовление срезов коры и гипоталамуса мозга проводили на льду.

Определение высокоаффинного захвата аминокислот проводили по методу Хенна и Хамбергера [9] в инкубационной смеси, содержащей немеченую аминокислоту ($10^{-5}M$), аминооксиуксусную кислоту (АОУК) ($10^{-5}M$) в качестве ингибитора трансаминирования, $0,005 \text{ мКи/мл}$ соответствующей C^{14} -меченой аминокислоты.

На каждую пробу брали по 10 мг срезов коры или гипоталамуса. Объем инкубационной смеси доводили до 1 мл средой поглощения. В качестве среды поглощения использовали модифицированный буфер Кребса-Генселяйта, в состав которого входят трис-буфер, ($pH=7,4$) — 25 mM , $NaCl$ — $127,2$, KCl — 5 , $CaCl_2$ — $1,3$, $MgSO_4$ — $1,3$, глюкоза — $11,1 \text{ mM}$.

Пробы инкубировали, затем центрифугировали при 4000 об/мин при температуре $4^\circ C$ в течение 15 мин . Надосадочную жидкость отделяли. Осадок промывали, солибилизировали раствором диметилсульфоксида и переносили во флаконы с 5 мл сцинтилляционной жидкости Брея. Радиоактивность измеряли на счетчике "Intertechnique SL-4221".

Степень захвата НМА 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), ГК, АК, АОУК фирмы "SIGMA" (США). Использованы C^{14} -ГК и C^{14} -АК с удельной радиоактивностью 200 и 140 мКи/ммоль соответственно (Чехия).

Результаты и обсуждение

Полученные результаты показали, что инкубация срезов коры и гипоталамуса мозга при $37^\circ C$ в течение 25 мин приводит к значительному поглощению ГК и АК. У интактных животных показатели интенсивности захвата ГК и АК составляют $11,43 \pm 2,4$ и $10,38 \pm 0,23 \text{ имп/мин/мг}$ среза, имп/мин/мкл среды соответственно в срезах коры и $8,37 \pm 0,27$ и $10,24 \pm 0,18 \text{ имп/мин/мг}$ среза, имп/мин/мкл среды ($p < 0,001$) соответственно в срезах гипоталамуса.

У животных, содержащихся в условиях 15-дневной гипокинезии, интенсивность захвата как в срезах коры, так и гипоталамуса резко снижается, составляя в коре $6,32 \pm 0,3$ и $7,29 \pm 0,21 \text{ имп/мин/мг}$ среза и имп/мин/мкл среды, а в гипоталамусе $5,59 \pm 0,09$ и $7,69 \pm 0,11 \text{ имп/мин/мг}$ среза, имп/мин/мкл среды соответственно ($p < 0,001$). Таким образом, 15-дневная гипокинезия приводит к снижению захвата ГК и АК в срезах коры головного мозга на 45 и 30% , а в срезах гипоталамуса на 33 и 25% соответственно (рис. 1, 2).

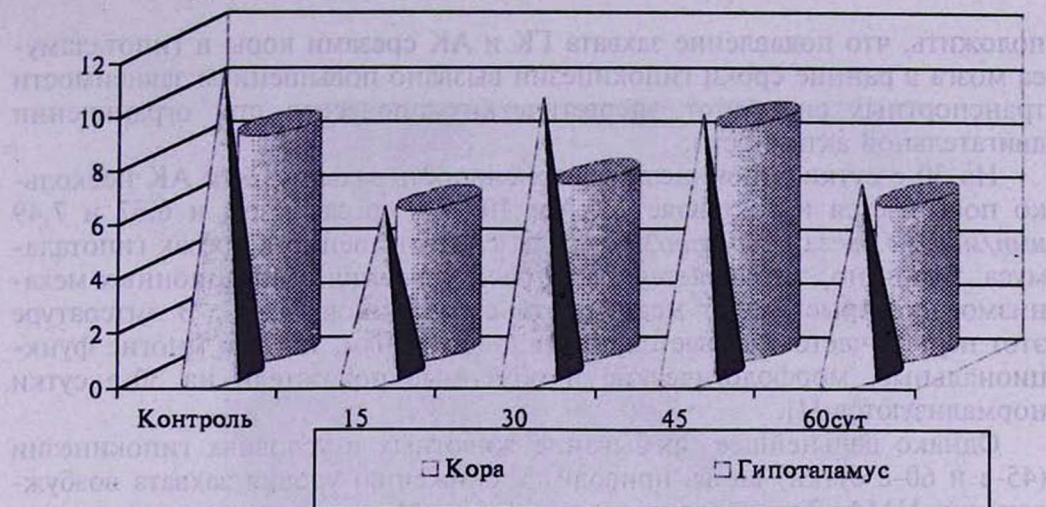


Рис.1. Захват ^{14}C -ГК в срезах коры и гипоталамуса мозга в различные сроки гипокинезии (индекс захвата $\text{срм мг среза/срм мкл среды}$)

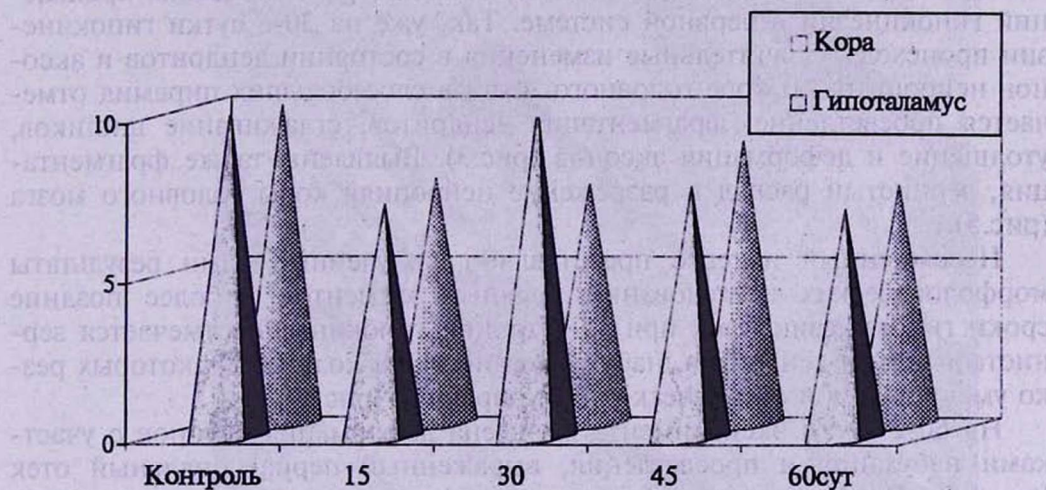


Рис.2. Захват ^{14}C -АК в срезах коры и гипоталамуса мозга в различные сроки гипокинезии (индекс захвата $\text{срм мг среза/срм мкл среды}$)

Высокоаффинный захват НМА является энергозависимым процессом, сопряженным с работой Na , K -АТФ-азы, и значительно блокируется убаином [11]. Для гипокинезии характерно снижение энергообеспечения транспортных процессов в мозговой ткани [2, 6, 12]. Можно пред-

положить, что подавление захвата ГК и АК срезами коры и гипоталамуса мозга в ранние сроки гипокинезии вызвано повышением зависимости транспортных систем от энергетических процессов при ограничении двигательной активности.

На 30-е сутки гипокинезии интенсивность захвата ГК и АК несколько повышается и составляет 10,3 и 10,06 в срезах коры и 6,57 и 7,49 *имп/мин/мг* среза, *имп/мин/мкл* среды соответственно в срезах гипоталамуса. Вероятно, это является следствием усиления адаптационных механизмов, которые имеют место в эти сроки гипокинезии. В литературе этот период часто называется восстановительным, так как многие функциональные, морфологические и обменные показатели на 30-е сутки нормализуются [4].

Однако дальнейшее пребывание животных в условиях гипокинезии (45-е и 60-е сутки) вновь приводит к снижению уровня захвата возбуждающих НМА. Так уровень захвата ГК и АК в срезах коры головного мозга снижается на 38 и 31%, а в гипоталамусе на 30 и 27% соответственно.

Учитывая важность морфологических исследований для объяснения изменения захвата НМА при гипокинезии, нами была проведена серия экспериментов с целью выявления основных морфологических проявлений гипокинезии в нервной системе. Так, уже на 30-е сутки гипокинезии происходят значительные изменения в состоянии дендритов и аксонов нейроцитов. В коре головного мозга в слое больших пирамид отмечается просветление, фрагментация дендритов, сглаживание шипиков, утолщение и деформация аксонов (рис.3). Выявлены также фрагментация, зернистый распад и разрежение нейропиля коры головного мозга (рис.5).

Несомненный интерес представляют полученные нами результаты морфологических исследований нервных элементов в более поздние сроки гипокинезии. Так, при 45-суточной гипокинезии отмечается зернистый распад дендритов, набухание шипиков, количество которых резко уменьшается и они нечетко контурируются (рис.4,а).

На 60-е сутки эксперимента выявлена деформация аксонов с участками набухания и просветления, выраженный периаксональный отек (рис.4,б). Одновременно наблюдаются деформация дендритов, перикеллюлярный и перидендритический отек (рис. 4,в).

Методами серебрения удалось обнаружить также истончение, фрагментацию и значительное разрежение нейропиля коры головного мозга с резким ослаблением его аргирофилии (рис.5,в). Нам также удалось показать состояние продольных пучков переднего мозга белых крыс в области Caudate Putamen на 60-е сутки гипокинезии. Развивается истончение нервных волокон, ослабление их аргирофилии, в отдельных волокнах отмечаются деформация и булабовидные утолщения, вследствие натекания миелина (рис.6,б).

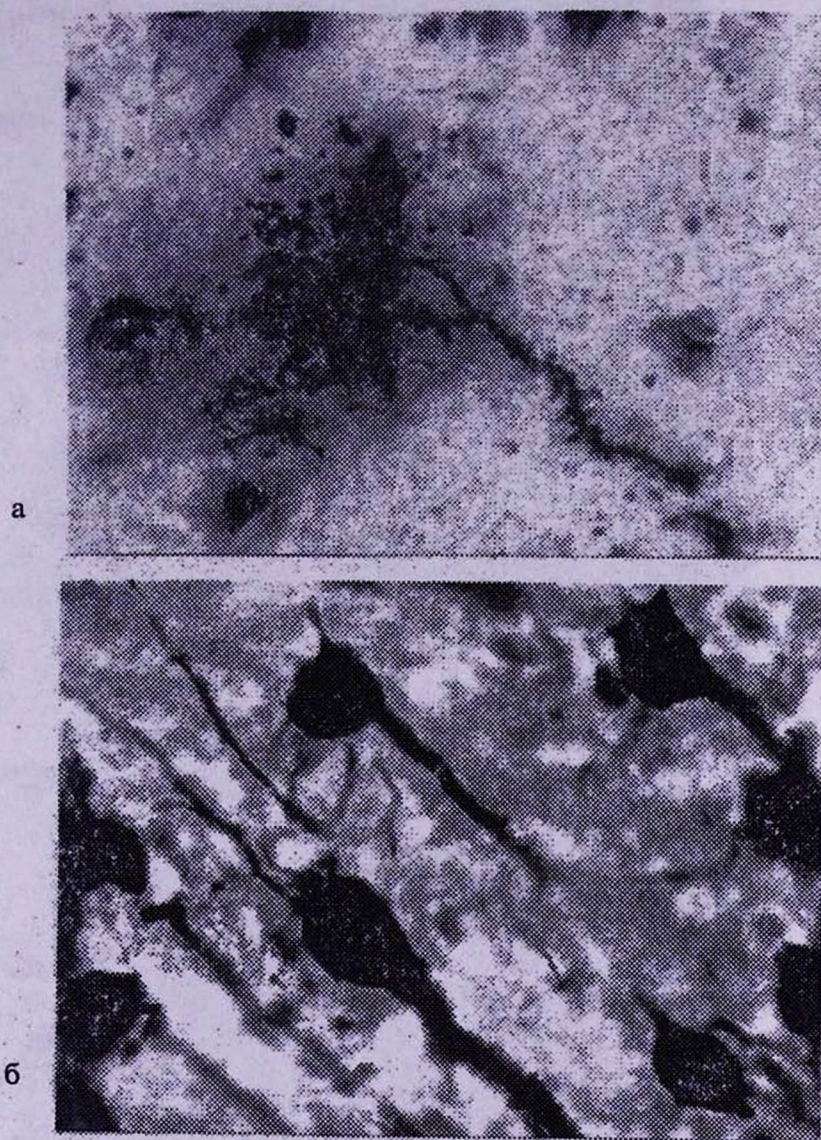


Рис. 3. Состояние дендритов и аксонов нейроцитов сенсомоторной зоны коры головного мозга крыс на 30-е сут. гипокинезии: а) интактная крыса: хорошо видны шипики на дендрите нейроцита; б) дендриты просветлены, фрагментированы, шипики практически не определяются, аксон утолщен, деформирован. Импрегнация серебром по Бюбенету. Ув. — $\times 1000$.

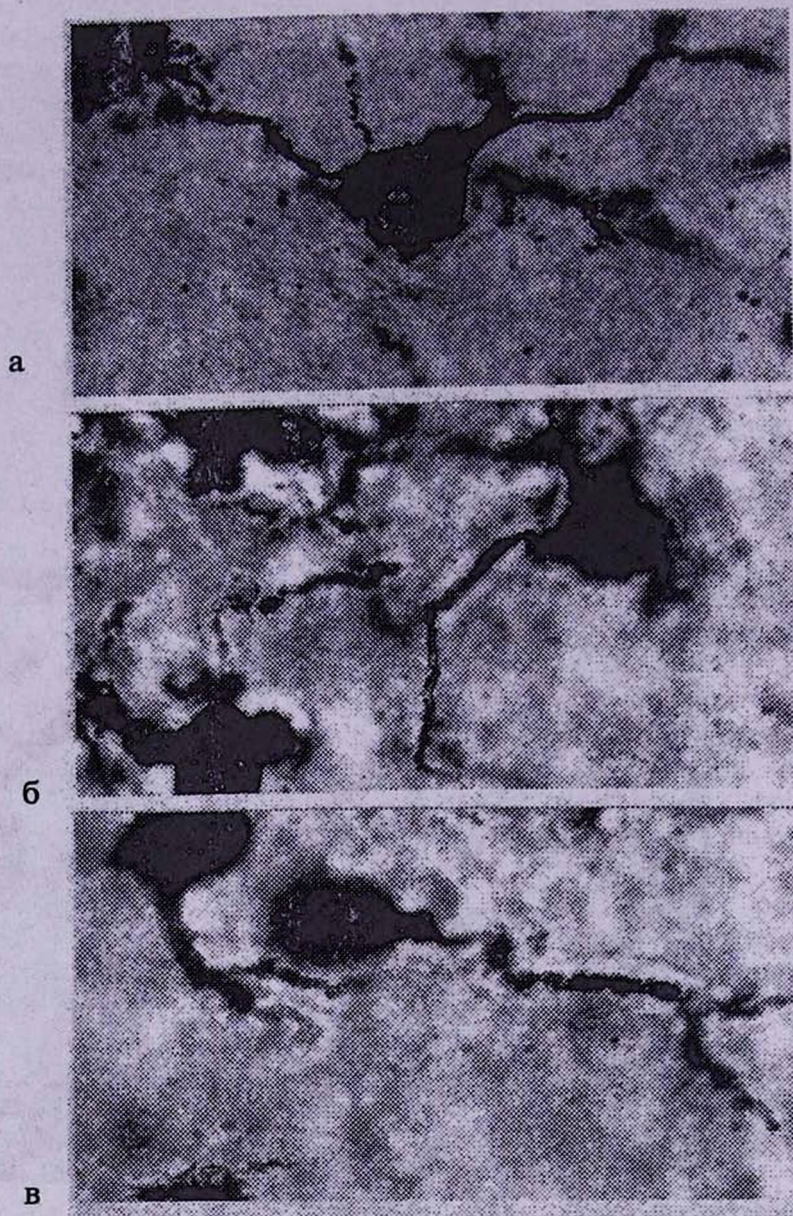


Рис. 4. Состояние отростков нейроцитов сенсомоторной зоны коры головного мозга крыс в поздние сроки гипокинезии: а) 45-е сут. эксперимента: зернистый распад дендрита, шипики набухшие, редкие, нечетко контурируются; б, в) 60-е сут. эксперимента: резко выраженная деформация аксона с участками набухания и просветления, периаксональный отек (б), деформация дендритов, перичеселлюлярный и перидендритический отек. Импрегнация серебром по Бюбенету. Ув. $\times 1000$.

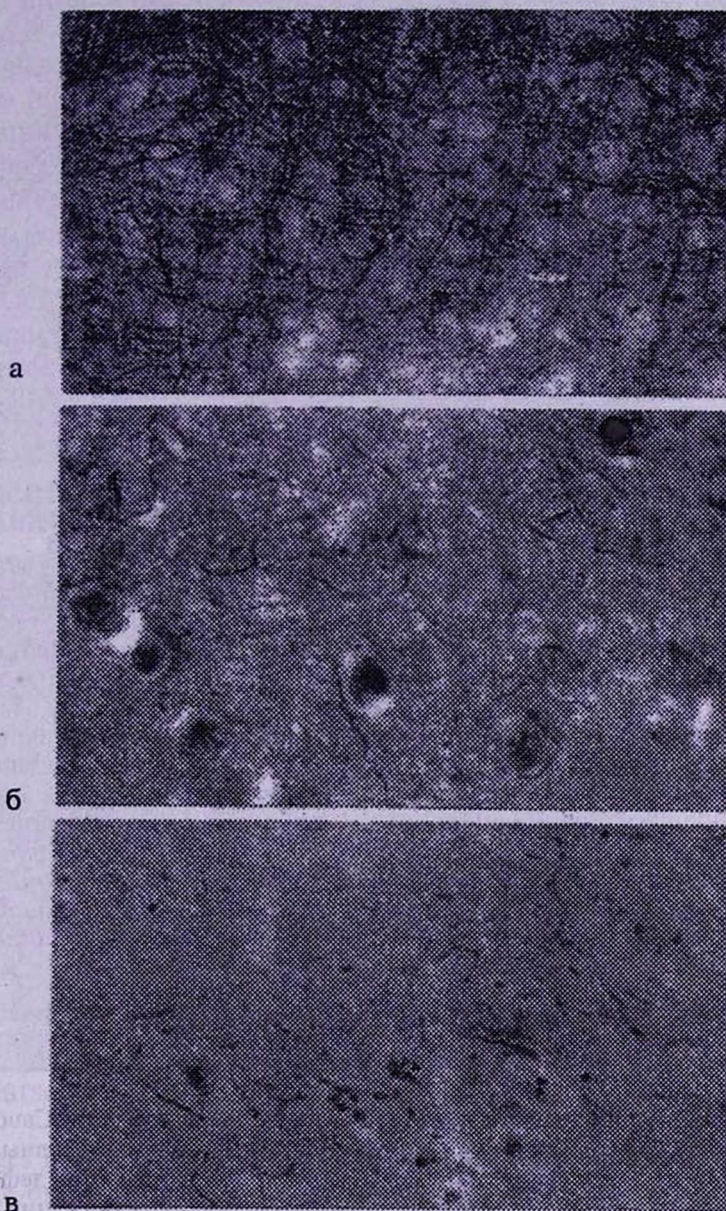


Рис. 5. Динамика изменений нейропиля сенсомоторной зоны коры головного мозга крыс при гипокинезии: а) интактная крыса — нейропиль представлен густым переплетением интенсивно аргирофильных волокон; б) 30-е сут. гипокинезии — фрагментация, зернистый распад и разреженность нейропиля; в) 60—е сут. гипокинезии — истончение, фрагментация и выраженное разрежение нейропиля с резким ослаблением его аргирофилии. Импрегнация серебром по Нонидецу. Ув. — $\times 1000$.

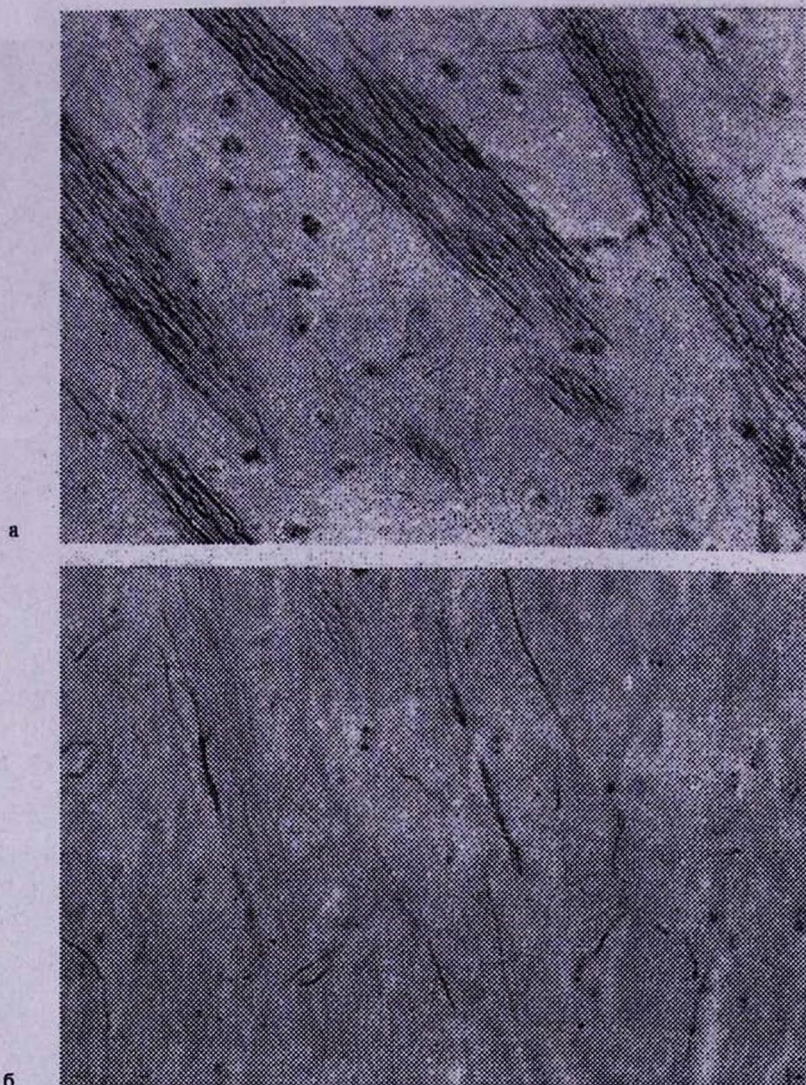


Рис. 6. Состояние продольных пучков переднего мозга в области Caudate Putamen:
 а) интактная крыса, б) 60-е сут. гипокинезии — истончение нервных волокон,
 ослабление их аргирофилии, в отдельных волокнах замечаются деформация и
 булабовидные утолщения вследствие натеков миелина. Импрегнация серебром по
 Нонидецу. Ув. — х 400.

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 включается в общую цепь нарушений функций ЦНС. Развивается общая астенизация нервной системы и ослабление ее регуляторных функций.

Таким образом, весь комплекс отмеченных биохимических и морфологических изменений, происходящих в организме в указанные сроки гипокинезии, неизбежно отражается на передаче нервного импульса. С другой стороны, полученные нами результаты о волнообразном изменении показателей захвата возбуждающих дикарбоновых аминокислот ГК и АК свидетельствуют о различном характере реакции организма в разные сроки гипокинезии.

Поступила 10.03.98

**ՍԱԿԱՎԱՇԱՐԺՈՒԹՅԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՆՅԱՐԳԱՓՈԽԱՆՑԻՉ
ԱՄԻՆԱԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՀԵՏԱԳԱՐՉ ԶԱՎԹՄԱՆ ՎՐԱ ԳԼԽՈՒՂԵՂԻ ԿԵՂԵՎԻ
ԵՎ ՀԻՊՈԹԱԼԱՄՈՒՄԻ ԿՏՐՎԱԾՔՆԵՐՈՒՄ**

Ս.Դ.Բարսեղյան, Ա.Ս.Կանայան, Վ.Հ.Քնարյան, Լ.Ն.Արակելյան

Սպիտակ առնետների գլխուղեղի կեղևում և հիպոթալամուսում ուսումնասիրված է նշակիր ամինաթթուների Na^+ -կախյալ հետադարձ զավթման կրած փոփոխությունները 15, 30, 45, 60 օր տևողությամբ սակավաշարժության պայմաններում:

Բացահայտված է, որ սակավաշարժության տևողությանը զուգընթաց գլխուղեղի և ասպարազինաթթվի հետադարձ զավթումը ենթարկվում է խորը փոփոխությունների, որոնք ունեն փուլային բնույթ: Ընդ որում սակավաշարժության ուշ շրջանում գլխուղեղի կեղևում նկատվում է հետադարձ զավթման ինտենսիվության ավելի կտրուկ անկում քան հիպոթալամուսի կտրվածքներում:

Զուգահեռ կատարված կառուցվածքաբանական հետազոտությունների արդյունքում պարզվել է, որ սակավաշարժության ազդեցության ներքո առկա են նյարդային հյուսվածքի կառուցվածքային տարրերի զգալի փոփոխություններ:

**THE INFLUENCE OF HYPOKINESIA ON NEUROTRANSMITTER AMINO ACIDS
UPTAKE IN RAT BRAIN CORTEX AND HYPOTHALAMUS SLICES**

S.D.Barsegian, A.S.Kanayan, V.H.Knaryan, L.N.Arakelyan

The changes in the Na^+ -dependent uptake of neurotransmitter amino acids (NMA) in rat brain cortex and hypothalamus slices in 15, 30, 45, 60-days' hypokinesia were studied.

It was revealed that hypokinesia leads to changes in the NMA uptake both in brain cortex and hypothalamus slices, which have a wavy character.

The decrease of the NMA uptake in brain cortex slices in the late period of hypokinesia is more expressed than in hypothalamus.

Parallel morphological studies have shown that there occur significant changes in nervous tissue elements structure during hypokinesia.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акопян В.П., Канаян А.С., Геворкян Г.А., Мелконян К.В. Фармакол. и токсикол., 1993, 4, с.3.
2. Грицук А.И. Особенности энергетического обмена и пула свободных аминокислот тканей в условиях гипокинезии различной длительности. Автореф. докт. дис., М., 1995.
3. Лобзин В.С., Михайленко А.А., Панов А.Г. Клиническая нейрофизиология и патология гипокинезии. Л., 1979.
4. Тигранян Р.А. Гормонально-метаболический статус организма при экспериментальных воздействиях. М., 1990.
5. Тизул А.Я. Тез. докл. конф. "Гипокинезия", М., 1997, с.80-81.
6. Соцкий О.П., Акопян В.П. и др. Медицинская наука Армении, 1996, т. XXXVI, 1-2, с.28.
7. Федоров В.П. Тез. докл. 10-го Всесоюз. съезда анатомов, гистологов и эмбриологов. Полтава, 1986, с.358.
8. Fagg G.E., Foster A.C. Neuroscience, 1983, .9, 4, p.701.
9. Hamberger A., Henn F.A. Metabolic compartmentation in the brain. USA, 1971, p. 305.
10. Johannes B., Kirsch K., Salnitzki V. Abstract Book of Conf. "Hypokinesia", Moscow, Russia, 1997, p.98.
11. Nicholas W. J., Puszkis S., Berl S. J. Neurochem., 1973, 20, 1, p.109.
12. Rifkin D.H., Gamble J.G., Max S.R. Amer. J. Physiol., 1973, 225, 6, p. 1295.
13. Zhvaniia M.G., Tobolskaia M.M. Zh. Vyssh. Nerv. Deiat., 1993 Jan-Feb, 43 (1), p.165.

