

УДК 612.014.423+612.8.015

ФИЗИОЛОГИЯ

В. Я. БРОДСКИЙ, В. Н. ГУСАТИНСКИЙ, А. Б. КОГАН, Н. В. НЕЧАЕВА

**РАЗЛИЧИЯ В ИНТЕНСИВНОСТИ ВКЛЮЧЕНИЯ Н<sup>3</sup>-ЛЕЙЦИНА  
В БЕЛКИ ПРИ МЕДЛЕННОВОЛНОВОЙ И ПАРАДОКСАЛЬНОЙ  
ФАЗАХ ЕСТЕСТВЕННОГО СНА В АССОЦИАТИВНОЙ КОРЕ  
МОЗГА КОШКИ**

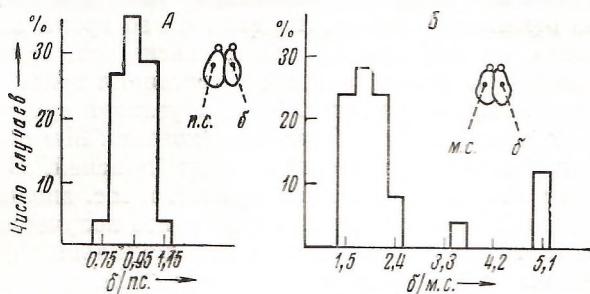
(Представлено академиком М. Н. Ливановым 20 XII 1973)

В цитохимических исследованиях выяснена связь между функциональной активностью нервной ткани и метаболизмом РНК и белков в нейронах (<sup>1-4</sup>). Обнаружение двух фаз сна — медленноволновой (м.с.) и парадоксальной (п.с.), различающихся по электрической активности мозга и другим показателям, позволило представить разную их значимость в процес сах обмена макромолекул ц, следовательно, в репаративном метаболизме нервной ткани. Действительно, было выяснено, что с увеличением доли п.с. усиливается синтез определенных фракций РНК в ткани мозга (<sup>5</sup>). Опыты с предотвращением п.с. обнаружили уменьшение содержания белка в нейронах супраоптического и красного ядер головного мозга крыс при депривации, сравнительно с полноценным сном и состоянием бодрствования (<sup>6</sup>). Депривация п.с. сопровождалась также резким возрастанием включения ряда аминокислот в белки мозга крыс (<sup>7</sup>).

Задачей нашей работы было изучение интенсивности синтеза белка в ткани мозга, выделенной непосредственно во время м.с. и п.с., а также в состоянии активного бодрствования. Биопсия мозга осуществлялась специальным устройством, позволяющим извлекать около 50 мг ткани мозга спящего животного, не пробуждая его, в определенную фазу сна. Изоляция ткани снимала влияние систем, которые в целом мозге осуществляют смену фаз сна. Поэтому метаболическое состояние участка мозга, выделенного во время п.с. или м.с., может считаться аналогом той или иной фазы сна.

За 6–7 дней до опыта у кошек под нембуталовым наркозом проводилась трепанация черепа в симметричных точках над теменными зонами мозга. После удаления твердой мозговой оболочки в отверстия черепа ввинчивали эbonитовые втулки с пробками, в которых были укреплены электроды для регистрации электроэнцефалограммы. В ходе операции устанавливались также электроды для записи электроокулограммы, электрической активности гиппокампа и электромиограммы шейных мышц. Через два дня после операции, когда общее состояние животных нормализовалось, их ежедневно помещали на 60–90 мин. в экспериментальную камеру для адаптации к условиям опыта. По истечении 6 дней после операции за 10 мин. до начала опыта на место пробки с электродами помещалось устройство для биопсии мозга. Принцип действия устройства заключался в мгновенном извлечении участка коры с помощью миниатюрного ковшика с зубчатыми краями, приводимого в действие пружиной. Получение ткани осуществлялось под электрофизиологическим контролем в заданную фазу сна. Биопсия мозга из другого полушария проводилась через сутки в состоянии активного бодрствования животного, когда э.к.о.г. в интактном полушарии не отличалась от исходной. Длительность м.с., предшествовавшая биопсии мозга, составляла 20 мин., п.с. 1,5 мин., состояния активного бодрствования 20 мин. Выделенные взвешенные кусочки мозга измельча-

лись и помещались на 45 мин. в среду 199 с  $H^3$ -лейцином (доза 15 мкС/мл), содержащую 20% сыворотки крупного рогатого скота, а также 70 мкг витамина С и 4 мг глюкозы на 1 мл среды. После инкубации кусочки промывали холодной средой 199 с избытком немеченого лейцина, затем обрабатывали холодной 5% трихлоруксусной кислотой (ТХУ), гидролизовали 5% ТХУ при 90° в течение 15 мин. для удаления нуклеиновых кислот. Надосадочную жидкость сливали, осадок промывали 96° этанолом и эфиром. Впоследствии преципитат полностью растворяли гиамином, добавляли толуоловый сцинтиллятор и измеряли радиоактивность на сцинтилля-



Таким образом, количественные данные (рис. 1) приводят к выводу, что п.с., предшествующий выделению ткани мозга и ее инкубации с меченою аминокислотой, увеличивает радиоактивность белков в 2 раза по сравнению с м.с. в тех же условиях существования ткани *in vitro*. В этом отношении влияние п.с. не отличается от бодрствования мозга. Измерение одной радиоактивности  $H^3$ -лейцина в белках не дает строгого представления об интенсивности синтеза белка. Мы не знаем изменений внутриклеточного фонда аминокислот и проницаемости клетки для экзогенных предшественников. При п.с. и м.с. возможен также неодинаковый по интенсивности распад белков. Все же столь существенные различия радиоактивности белков, которые отмечены в ткани, выделенной во время п.с. и м.с., вряд ли совсем не соответствуют изменениям интенсивности синтеза белка в той или иной фазе сна. Функциональные состояния целой и изолированной ткани, по-видимому, отличаются. Однако условия существования ткани *in vitro* во всех наших опытах были одинаковыми. Мы оценивали влияние на метаболизм мозга его состояния перед биопсией. В этом смысле различия в общем метаболизме белков при п.с. и м.с. вполне ясны.

Результаты нашей работы соответствуют ранее полученным косвенным данным о высоком уровне метаболизма в парадоксальной фазе сна. Так, у высших позвоночных в период раннего постнатального развития, когда доля п.с. достигает 70% (8, 9), содержание РНК и белков в нейронах возрастает (10). В п.с. возрастает температура мозга, нередко превышая его температуру в состоянии бодрствования, увеличивается насыщение крови кислородом, сравнительно с м.с. растет местный кровоток (11). Известные факты относительно ускорения синтеза белка при возрастании функциональной активности нервной ткани (2, 4) коррелируют с электрофизиологическими данными о возрастании частоты импульсации у большинства нейронов коры мозга в п.с. относительно м.с. (12, 13).

Полученные нами и литературные данные (5, 6, 10, 11) свидетельствуют о том, что в п.с. кора мозга находится в активном состоянии, во многом сходном с состоянием бодрствования. В то же время очевидно, что между этими состояниями имеются и значительные различия, которые, возможно, заключаются в несовпадении уровней белкового распада. По-видимому, большая часть дефицита пластического материала во время сна ликвидируется посредством ускоренного синтеза белка в п.с., так как его продолжительность у высших млекопитающих достигает 20–30% общей продолжительности сна (14). Не следует, однако, исключать возможность reparации нервной ткани и в период общего понижения электрической активности во время м.с. У целого ряда животных п.с. вообще отсутствует.

Сопоставление уровней белкового синтеза и распада на разных фазах сна и в состоянии активного бодрствования может дать новые сведения о физиологическом значении каждой фазы сна.

Институт биологии развития  
Академии наук СССР  
Москва

Поступило  
20 XII 1973

Ростовский государственный университет  
Ростов-на-Дону

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Хиден, Нейрон, В сборн. Функциональная морфология клетки, ИЛ, 1963, стр. 185. <sup>2</sup> В. Я. Бродский, Трофика клетки, «Наука», 1966. <sup>3</sup> Л. З. Певзнер, Функциональная биохимия нейроглии, «Наука», 1972. <sup>4</sup> Ю. М. Гейнисман, В. Н. Ларина, В. М. Мац, Цитология, т. 12, № 8, 1029 (1970). <sup>5</sup> A. Vitale-Neugebaeret, A. Giuditta, J. Neurochem., v. 17, 8, 263 (1970). <sup>6</sup> Г. Ш. Воронка, Н. Н. Демин, Л. З. Певзнер, ДАН, т. 198, № 4, 974 (1971). <sup>7</sup> P. Bobillier, F. Sakai, Life Sci., v. 10, 1349, 223 (1971). <sup>8</sup> M. Jouvet, Physiol. Rev., v. 47, 2, 117 (1967). <sup>9</sup> А. Н. Шеповалников, Активность сияющего мозга, «Наука», 1971. <sup>10</sup> M. Haltia, Acta physiol. scand., Suppl., 352 (1970). <sup>11</sup> А. М. Вейн, Н. А. Власов, Усп. совр. биол., 75, № 2, 295 (1973). <sup>12</sup> E. V. Evarts, In: Neurosciences, v. 4, N. Y., 1967, p. 545. <sup>13</sup> А. Б. Коган, Г. Л. Фельдман, В сборн. Механизмы сна, «Наука», 1971, стр. 16. <sup>14</sup> J. Sigel, T. Gordon, Science, v. 148, 3672, 978 (1965).