

М. М. АЛЕКСАНДРОВСКАЯ, Р. И. КРУГЛИКОВ, В. В. ШЕВЦОВ

СТРУКТУРА И БЕЛКОВЫЙ МЕТАБОЛИЗМ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ПОВТОРНЫХ ЭЛЕКТРОШОКАХ

(Представлено академиком В. В. Париным 17 V 1971)

Ранее (¹) было показано, что однократный электрошок (э.ш.), широко используемый при изучении механизмов памяти, приводит к морфологическим изменениям тканево-структурных элементов различных отделов головного мозга. В плане дальнейшего изучения влияния э.ш. на центральную нервную систему и в связи с тем значением, которое придается процессам синтеза белка в фиксации временных связей (^{2, 3, 7, 10, 11}) представляло интерес сопоставление морфологических изменений, вызываемых э.ш., с биохимическими данными об изменениях белкового метаболизма в головном мозге. Такое сопоставление являлось целью настоящей работы.

Опыты проведены на крысах линии Вистар весом 120—150 г. Для получения более выраженных морфологических и биохимических изменений животных подвергали 6 э.ш. с интервалами 5 мин. Декапитация животных производилась через 5 мин. (I серия) или 2 часа (II серия) после последнего э.ш. Мозг подопытных животных изучался на фронтальных срезах, окрашенных по Нислю и Эйнарссону для выявления нейронов и импрегнированных по Кахалю для выявления астроцитов. Подсчет количества астроцитов проводился как и в (¹). При исследовании мозга животных I серии в двигательной коре обнаружены явления набухания тел, ядер и отростков крупных пирамидных клеток. Отмечаются спавшиеся, неравномерно извитые капилляры и прекапилляры, вокруг отдельных прекапилляров выраженные явления отека. Аналогичные изменения нейронов обнаружены в подкорковых образованиях. Клетки пирамидного слоя гиппокампа с набухшими телами и отростками, часть пирамид со смытым рисунком и гомогенизацией протоплазмы. Имеется много сморщенных нейронов с темноокрашенной протоплазмой и извитыми отростками. Сосудистые изменения носили такой же характер, как описано выше.

Через 2 часа после серии э.ш. нейроны в двигательной коре были сморщенными, с извитыми отростками и темным закрашиванием тигроида. Встречались и сохранные нейроны с увеличенными ядрами, много нейронов со светлой, иногда гомогенной протоплазмой и явлениями цитолиза. Имеются перикапиллярные и периваскулярные отеки, вокруг отдельных спавшихся капилляров много сморщенных, с извитыми отростками нейронов. Клетки пирамидного слоя гиппокампа с выраженными дистрофическими изменениями, часто с лизисом протоплазмы, ядер и распадом отростков. Количество астроцитов у животных I серии составляло $2,95 \pm 0,10$, II серии $7,82 \pm 0,24$ (контроль $2,28 \pm 0,07$). При этом отмечалось уменьшение размеров тел астроцитов с наличием более тонких по сравнению с контролем отростков. Иногда, особенно через 2 часа после серии э.ш., встречались и дистрофические изменения астроцитов с фрагментацией отростков. Реакция олигодендроглии носила выраженный продуктивный характер, отмечалось большое количество отростчатых олигодендроцитов в коре и гиппокампе. Клетки микроглии атрофичны, с тонкими, без вторичных ветвлений отростками.

Все описанные изменения укладываются в картину гипоксической энцефалопатии.

Для изучения влияния серии э.ш. на процессы синтеза и распада белков за 1 и 3 часа до декапитации животным подкожно вводили $25 \mu\text{C}$ C^{14} -I-валина или интравентрикулярно $30 \mu\text{C}$ H^3 -лизина. Субклеточное фракционирование проводили с помощью препаративной центрифуги Beckman Spinco L-2. Суммарные ядра получали по (¹³), «грубую» митохондриальную фракцию по (¹⁸) с промывкой от микросом при 10 000 g в течение 20 мин. в 0,32 M сахарозе. Постмитохондриальную надосадочную жидкость центрифугировали 60 мин. при 18 000 g, в осадке получали «грубые» микросомы. Оставшийся супернатант при 105 000 g в течение 2 час. разделяли центрифугированием на цитоплазматическую фракцию и фракцию неочищенных рибосом. Разделение «грубой» митохондриальной фракции проводили по модифицированной нами методике (¹⁶) центрифугированием при 130 000 g в прерывистом градиенте плотности сахарозы, состоявшем из равных объемов 0,8—1,0—1,1—1,2 M растворов. Соответственно получали 5 фракций: миелины, синаптические мембраны с примесью миелина, синаптосомы, тяжелые синаптосомы с примесью митохондрий и митохондрии. Фракции идентифицированы электронно-микроскопически. Подготовку белковых проб и просчет радиоактивности сцинтилляционным счетчиком Nuclear Chicago — 720 проводили по (⁹). О степени обновления белков гомогенатов и фракций судили по отношению удельной радиоактивности (о.у.р.), которая выражалась отношением удельной радиоактивности белка к удельной радиоактивности безбелкового ТХУ-фильтрата гомогената. Для суждения о скорости распада белков в «грубой» митохондриальной фракции определяли активность суммы катепсинов (субстрат — гемоглобин, pH 5) по (⁶). Активность фермента выражали в удельных единицах, белок определяли по Лоури.

Включение C^{14} -валина в белки гомогената и большинства субклеточных фракций коры больших полушарий через 5 мин. после серии э.ш. снижалось на 12—20%, а во фракции митохондрий и тяжелых синаптосом — на 25—26%. При использовании в качестве предшественника H^3 -лизина также обнаружено торможение синтеза белков в гомогенатах коры больших полушарий (на 27%) и особенно гиппокампа (на 44%). Наряду с этим отмечалась существенная (на 74%) активация катепсинов, сохранявшаяся еще спустя 1 час после серии э.ш. Через 2 часа после серии э.ш. включение H^3 -лизина в белки гомогената и субклеточных фракций, в особенности фракции митохондрий, возрастало на 14—49%.

Таким образом, повторные э.ш. приводят к выраженному угнетению синтеза белков, в особенности в гиппокампе, с последующей его активацией. Снижение белкового синтеза может быть связано с активацией протеиназ, нарушениями энергетического обеспечения биосинтетических процессов (⁵, ¹²) и дезагрегацией полисом (¹⁴, ¹⁵). Наибольшие изменения включения меченых аминокислот в митохондриальные белки (снижение на 25% через 5 мин. после серии э.ш. и увеличение на 49% в восстановительном периоде), наряду с электронномикроскопическими данными (⁴) о нарушении структуры митохондрий при судорожных состояниях, соответствуют гистохимическим данным о высокой реактивности митохондрий нервных клеток (⁸).

Сопоставление биохимических сдвигов с морфологическими изменениями выявляет определенные корреляции. Следует прежде всего отметить, что фактам дистрофических изменений нейронов и глии коры больших полушарий и в особенности гиппокампа у животных I серии соответствуют данные об активации протеиназ и угнетении синтеза белков субклеточных фракций коры больших полушарий и о более глубоком подавлении белкового синтеза в гиппокампе по сравнению с новой корой. Последнее обстоятельство отражает, по-видимому, хорошо известные

особенности судорожных состояний в лимбике. В происхождении морфологических и биохимических сдвигов значительную роль играют, по-видимому, явления гипоксии и отека, связанные, в частности, с нарушениями кровоснабжения и повреждениями митохондрий. Наблюдаемая через 2 часа после серии э.ш. активация белкового синтеза во всех субклеточных фракциях по времени совпадает с выраженной активацией нейроглии. Увеличение количества импрегнируемых нейроглиальных элементов, отражающее метаболические сдвиги в последних, может в связи с этим рассматриваться как одно из проявлений компенсаторно-восстановительной реакции мозга.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии
Академии наук СССР
Москва
Второй Московский медицинский институт

Поступило
25 IV 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ М. М. Александровская, Р. И. Кругликов, ДАН, 197, № 5, 1216 (1971).
² И. С. Бериташвили, Память позвоночных животных, ее характеристика и происхождение, Тбилиси, 1968. ³ Ф. З. Меерсон, Р. И. Кругликов, Журн. высш. нервн. деят., 16, 2, 274 (1966). ⁴ В. С. Петров, Биофизика, 11, 605 (1966).
⁵ К. И. Погодаев, Биохимия эпилептического приступа, М., 1964. ⁶ А. А. Покровский, А. И. Арчаков, В кн. Современные методы в биохимии, 2, М., 1968, стр. 46. ⁷ Х. Хидеи, П. В. Ланге, Журн. эволюц. биохим. и физиол., 5, 2, 145 (1969). ⁸ А. Л. Шабадаш, В сборн. Проблемы нейрхимии, М.—Л., 1966, стр. 53.
⁹ В. В. Шевцов, Р. Н. Глебов, А. Н. Гуринович, В сб. Морфологические и физиологические основы регуляции и восстановления функций организма, М., 1970.
¹⁰ S. H. Barondes, H. D. Cohen, Brain Res., 4, 1, 44 (1967). ¹¹ H. D. Cohen, S. H. Barondes, Nature, 218, 271 (1968). ¹² Z. J. King, O. L. Webb, J. Neurochem., 17, 1, 13 (1970). ¹³ H. H. Løvtrup-Rein, B. S. McEwen, J. Cell Biol., 30, 2, 405 (1966). ¹⁴ J. W. McInnes, E. H. McConkey, K. Schlesinger, J. Neurochem., 17, 3, 457 (1970). ¹⁵ C. Vesco, A. Guiditta, J. Neurochem., 15, 81 (1968). ¹⁶ V. P. Whittaker, J. A. Michaelson, K. J. A. Kirkland, Biochem. J., 90, 293 (1964).