

Б. А. РОЙТРУБ, Н. Н. ОЛЕШКО, В. А. ЧЕРКЕС

**СОСТОЯНИЕ ВОЗБУДИМОСТИ И АКТИВНОСТЬ  
АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ НЕОСТРИАТУМА ПОСЛЕ  
РАЗРУШЕНИЯ ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ У КРЫС**

*(Представлено академиком В. Н. Черниговским 30 V 1973)*

В последние годы появилось много работ о nigro-стриарных связях и их допаминэргической природе. Основной факт заключался в том, что после разрушения черной субстанции значительно снижался уровень доп-амина в ипсилатеральном хвостатом ядре и скорлупе (<sup>1-5</sup>). Между тем известно, что неостриатум богат не только адренэргическими, но и холинэргическими структурами (<sup>6-9</sup>). В хвостатом ядре во много раз интенсивнее синтез ацетилхолина и более высокая активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ), чем в коре, таламусе, гипоталамусе (<sup>10-13</sup>).

Имеются указания, что в составе восходящих путей из среднего мозга в неостриатум содержатся также холинэстеразные волокна; возможно, среди них имеются те, которые берут свое начало в черной субстанции (<sup>14, 15</sup>).

Цель настоящей работы — определить прямым количественным методом концентрацию АХЭ после разрушения черной субстанции у крыс. Выключение черной субстанции, приводящее к изменению нейрхимической структуры неостриатума, может повлиять на его возбудимость. Поэтому у подопытных крыс определялся также порог прямого раздражения хвостатого ядра через вживленные электроды по отношению к выработанным рефлексорным двигательным реакциям.

Крысам линии Вистар стереотаксическим методом вживлялись биполярные электроды в правый и левый неостриатум по ориентирам атласа Альб-Фассар с соавторами (<sup>16</sup>). Устанавливались пороги раздражения стриатума, при котором наступало торможение ранее выработанной условной реакции избегания. В последующем у этих же крыс производилось электролитическое разрушение черной субстанции с одной стороны. Пороги тормозящего раздражения сравнивались до и после операции. Животные находились под наблюдением от 2 до 7 мес. После декапитации мозг животных быстро извлекали на холод. Одна часть мозга (неостриатум и серое вещество лобного полюса) предназначалась для биохимических исследований; другая (с очагом разрушения в области черной субстанции) — для морфологического контроля.

Для определения активности АХЭ применялась модификация (<sup>17</sup>) АХЭ (<sup>18, 19</sup>). Активность АХЭ выражалась количеством образуемой уксусной кислоты (в  $\mu\text{мол.}$ ) в расчете на 1 г свежей ткани в 1 час. При расчетах вычиталась величина, характеризующая самораспад ацетилхолинхлорида. Полученные данные обрабатывались статистически с использованием двухвыборочного рангового критерия Вилкоксона (Манна-Уитни) ( $U$ ).

Наряду с активностью АХЭ исследовалась также ее теплоустойчивость, которая служила косвенным показателем состояния конформации фермента. Теплоустойчивость АХЭ определялась по изменению ее активности после прогревания исследуемого препарата нервной ткани при

температуре 56° в течение 2 мин. Показателем изменения теплоустойчивости служила разница между активностью АХЭ до и после прогревания.

В качестве контроля по отношению к биохимическому исследованию неостриатума использовалась ткань серого вещества лобного полюса.

Как было показано ранее, низкочастотное раздражение неостриатума у крыс тормозит осуществление выработанной реакции избегания на звуковой раздражитель (20). Порог торможения реакции избегания до разрушения области черной субстанции составлял 2—7 в у разных животных при частоте 10 имп/сек и длительности раздражающего стимула

Таблица 1

Активность АХЭ (μмол. уксусной кислоты на 1 г ткани в 1 час)

Структура мозга	Интактные животные	Животные с односторонним разрушением черной субстанции	
		интактное полушарие	оперированное полушарие
Неостриатум	1620,5±90,0 (n=20)	1880,0±75,6 (n=9)	1616,0±109,2 (n=10)
Серое вещество лобного полюса	851,8±58,5 (n=14)	988,9±84,0 (n=9)	941,6±123,2 (n=9)

0,5 мсек. Одностороннее разрушение черной субстанции сопровождалось незначительным повышением порога торможения при стимуляции неостриатума оперированного полушария; при стимуляции неостриатума интактного полушария порог не изменялся.

Морфологический анализ последовательных фронтальных срезов головного мозга оперированных крыс показал полное одностороннее разрушение черной субстанции; окружающие структуры были затронуты коагуляцией в той или иной степени.

Результаты биохимических исследований показали, что после одностороннего разрушения области черной субстанции активность АХЭ неостриатума оперированного полушария не изменяется (табл. 1) либо имеет место тенденция к ее уменьшению (табл. 2). Между тем, в неостриатуме противоположного полушария, где черная субстанция была сохранена, установлено достоверное повышение активности АХЭ; разница между активностью АХЭ неостриатума интактного и оперированного полушария составляет  $\Delta=264,0$  ( $p=0,047$ ,  $U=24$ ,  $n=10$ ). Отмеченное повышение активности проявлялось весь период наблюдений, до 7 мес.

По нашим данным, активность АХЭ коры лобного полюса в норме почти в два раза ниже активности АХЭ в неостриатуме. После разрушения черной субстанции отмечается тенденция к некоторому повышению АХЭ в коре лобного полюса как в оперированном, так и в неоперированном полушарии (табл. 1).

Все полученные факты находят подтверждение в опытах с определением теплоустойчивости АХЭ. Из табл. 2 видно, что высокая активность АХЭ неостриатума у нормальных животных сопровождается высокой термоллабильностью этого фермента, значительно превышающей термоллабильность АХЭ в сером веществе лобного полюса: разница активности АХЭ до и после прогревания ткани неостриатума составляет  $\Delta=411,2$  ( $p=0,005$ ,  $U=117,5$ ,  $n=12$ ) по отношению к  $\Delta=41,6$  серого вещества лобного полюса.

Что касается животных с разрушенной черной субстанцией, следует подчеркнуть подобный же параллелизм между активностью АХЭ и термоллабильностью. Так, повышение активности АХЭ в неостриатуме неоперированного полушария (табл. 2) сопровождается повышением термоллабильности АХЭ ( $\Delta=556,2$  против 411,2 в норме).

Активность АХЭ (μмол, уксусной кислоты на 1 г ткани в 1 час)

Структура мозга	Интактные животные			Животные с односторонним разрушением черной субстанции					
	до прогревания (n = 12)	после прогревания	разница	интактное полушарие			оперированное полушарие		
				до прогревания (n = 8)	после прогревания	разница	до прогревания (n = 8)	после прогревания	разница
Неостриатум	1625,8±92,6	1214,6±122,4	411,2	1943,7±170,5	1387,5±99,2	556,2	1506,2±111,6	1203,1±142,6	303
Серое вещество лобного полюса	818,7±62,3	777,1±71,2	41,6	984,4±93,0	968,7±106,6	15,7	931,2±136,4	1006,2±139,5	-75

Отмечена тенденция к снижению как активности (табл. 2), так и термоллабильности АХЭ в неостриатуме оперированного полушария:  $\Delta=303,1$  против 411,2 в норме ( $p=0,052$ ,  $n=8$ ,  $U=47$ ).

Таким образом, сдвиги в активности АХЭ не дают основания для окончательного вывода о существовании нигро-стриарных холинэргических волокон. Повышение активности АХЭ в неостриатуме неоперированного полушария и в коре лобного полюса обоих полушарий может свидетельствовать о возникшей компенсации, механизм которой ближе еще неизвестен. Компенсация может быть обусловлена выбросом биологически активных веществ, взаимодействующих с АХЭ, следствием которого являются конформационные изменения АХЭ, ведущие к повышению ее активности. В пользу такого мнения указывает наличие высокой активности и высокой термоллабильности АХЭ в неостриатуме интактных животных на фоне высокого содержания катехоламинов в этом образовании.

Институт физиологии  
им. А. А. Богомольца  
Академии наук УССР  
Киев

Поступило  
26 V 1973

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> N.-E. Andén, A. Carlsson et al., *Life Sci.*, **3**, 523 (1964). <sup>2</sup> N.-E. Andén, A. Dahlström et al., *J. Am. Anat.*, **116**, 329 (1965). <sup>3</sup> L. J. Poirier, T. L. Sourkes, *Brain*, **88**, 181 (1965). <sup>4</sup> R. L. M. Faull, R. Lavery, *Exp. Neurol.*, **23**, 332 (1969). <sup>5</sup> R. Y. Moore, R. K. Bhatnagar, A. Heller, *Brain Res.*, **30**, 119 (1971). <sup>6</sup> F. C. Macintosh, *J. Physiol. (London)*, **99**, 436 (1941). <sup>7</sup> W. Feldberg, M. Vogt, *J. Physiol. (London)*, **107**, 372 (1948). <sup>8</sup> A. S. V. Burgen, L. M. Chipman, *J. Physiol. (London)*, **114**, 296 (1951). <sup>9</sup> W. Traczyk, B. Sadowski, *Electroencephalogr. and Clin. Neurophysiol.*, **17**, 272 (1964). <sup>10</sup> W. Feldberg, *Arch. Intern. Physiol.*, **59**, 544 (1951). <sup>11</sup> A. S. V. Burgen, L. M. Chipman, *J. Exp. Physiol.*, **37**, 61 (1952). <sup>12</sup> C. O. Hebb, *Physiol. Rev.*, **37**, 196 (1957). <sup>13</sup> D. Nachmansohn, *Chemical and Molecular Basis of Nerve Activity*, N. Y.—London, 1959. <sup>14</sup> C. C. D. Shute, P. R. Lewis, *Nature (London)*, **199**, 1160 (1963). <sup>15</sup> C. C. D. Shute, P. R. Lewis, *Brain*, **90**, 497 (1967). <sup>16</sup> D. Albe-Fessard, F. Stutinsky, S. Liboulan, *Atlas stéréotaxique du diencéphale du rat blanc*, Paris, 1966. <sup>17</sup> А. Ф. Макаренко, Б. А. Ройтуб и др., *Нейрофизиология*, **5**, 47 (1973). <sup>18</sup> H. O. Michel, *J. Lab. Clin. Med.*, **34**, 1564 (1949). <sup>19</sup> В. А. Яковлев, *Кинетика ферментативного катализа*, «Наука», 1965. <sup>20</sup> Н. Н. Олешко, *Журн. высш. нервн. деят.*, **21**, 144 (1971).