

СОСТОЯНИЕ ПРОЦЕССОВ БИОЭНЕРГЕТИКИ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС В ДИНАМИКЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

В.Е.НОВИКОВ, Л.А.КОВАЛЕВА, Н.Б.КОЗЛОВ, А.Н.ШАРОВ

Смоленская государственная медицинская академия 214019 Смоленск, ул. Крупской 28.

У крыс месячного возраста моделировали открытую черепно-мозговую травму. В динамике посттравматического периода изучали процессы биоэнергетики в мозге. Установлено нарушение окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга и угнетение активности мембранной АТФазы. Эти изменения наиболее выражены в 1-4 сутки после травмы. Восстановление процессов биоэнергетики в посттравматический период у месячных крыс происходит медленнее, чем у взрослых животных.

Ключевые слова: окислительное фосфорилирование, активность АТФаз, черепно-мозговая травма, неполовозрелые крысы, головной мозг.

В патогенезе посттравматических расстройств одно из ведущих мест принадлежит метаболическим изменениям в тканях мозга, которые запускают каскад патофизиологических и нейрохимических реакций [1]. Наиболее быстро и выражено при черепно-мозговой травме (ЧМТ) изменяется энергетический обмен в головном мозге. Ранее нами показано нарушение окислительного фосфорилирования, активности АТФаз, количественного содержания АТФ в мозге взрослых крыс при ЧМТ и отеке мозга [2-4].

Общеизвестно, что от возраста зависит активность ферментных систем, скорость протекания обменных процессов и выраженность метаболических изменений при различных повреждениях. В связи с этим представляло интерес изучить состояние биоэнергетики в головном мозге неполовозрелых животных в динамике ЧМТ.

Методика. Опыты проведены на белых беспородных крысах обоего пола. Возраст крыс - 1 месяц, масса 40-60 г. ЧМТ моделировали путем уколов иглой в мозговую ткань через трепанационное отверстие с помощью специальных приспособлений [3]. Все оперативные вмешательства проводили под эфирным наркозом. Через 1, 4 и 7 суток после ЧМТ крыс декапитировали. Контролем служили интактные животные. Из мозга методом дифференциального центрифугирования выделяли митохондрии, в которых полярографически определяли состояние окислительного фосфорилирования [5]. Субстратом окисления являлась глутаминовая кислота (3 мМ). Из данных полярограммы рассчитывали: скорости дыхания митохондрий в различных метаболических состояниях (V_0 , V_3 , V_4), скорость разобщенного дыхания ($V_{\text{днф}}$) - в нано г-атомах кислорода /мин/мг белка; дыхательный контроль Lardy, Wellman (Дкл) и по Chance, Williams (ДКч); коэффициент АДФ/О; стимуляцию дыхания 2,4 динитрофенолом (ДНФ); скорость фосфорилирования добавки АДФ (АДФ/т) - в наномолях АДФ/мин/мг белка [3]. В головном мозге определяли также активность общей АТФазы, Mg-АТФазы и Na,K-АТФазы [6-7].

Скорости дыхания, фосфорилирования и активность АТФаз выражали в расчете на белок [8].

Результаты экспериментов обработаны общепринятым методом вариационной статистики [9].

Результаты и обсуждение. Показатели работы митохондрий головного мозга месячных крыс в контроле и в динамике ЧМТ представлены в таблице 1. Из нее видно, что через сутки после травмы снижается дыхание митохондрий в различных метаболических состояниях (V_0 - на 29%, V_3 - на 37%, V_4 - на 20%, $V_{\text{днф}}$ - на 39,5%). Нарушается сопряжение в дыхательной цепи, о чем свидетельствует снижение дыхательного контроля ДКч (на 20%), коэффициента ДНФ (на 23%) и скорости фосфорилирования АДФ/т (на 36%).

Спустя 4 суток после травмы дыхание митохондрий почти нормализуется (начальная скорость V_0 и разобщенное окисление $V_{\text{днф}}$ соответствуют контролю, скорость фосфорилирующего окисления V_3 находится на нижней границе нормы, а окисление после фосфорилирования (V_4 несколько выше контроля). Однако сопряжение в дыхательной цепи остается нарушенным: ДКч снижено на 32%, коэффициент ДНФ - на 20%, АДФ/т - на 23%. Кроме этого снижается на 22% коэффициент АДФ/О.

Через 7 суток после ЧМТ работа митохондрий остается примерно такой же, как на 4 сутки. Только скорость фосфорилирования добавки АДФ (АДФ/т) снижена в меньшей степени.

Таблица 1

Состояние окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга месячных крыс в динамике
черепно-мозговой травмы ($M \pm m$)

Группы животных	V_0	V_3	V_4	$V_{днф}$	ДКл	ДКч	АДФ/0	ДНФ	АДФ/т
Контрольная n=10	28,58 $\pm 0,83$	76,77 $\pm 2,59$	24,36 $\pm 0,93$	84,89 $\pm 2,57$	2,71 $\pm 0,14$	3,17 $\pm 0,10$	3,19 $\pm 0,16$	3,50 $\pm 0,09$	230,51 $\pm 3,78$
Травма, 1 сут. n=10	20,21 $\pm 0,78$	48,28 $\pm 2,39$	19,52 $\pm 0,79$	51,40 $\pm 2,92$	2,42 $\pm 0,13$	2,53 $\pm 0,13$	3,10 $\pm 0,20$	2,68 $\pm 0,16$	148,30 $\pm 11,28$
P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	>0,05	<0,01	>0,05	<0,001	<0,001
Травма, 4 сут. n=11	28,48 $\pm 1,04$	70,08 $\pm 3,60$	33,44 $\pm 2,03$	91,46 $\pm 7,55$	2,46 $\pm 0,09$	2,16 $\pm 0,15$	2,49 $\pm 0,12$	2,80 $\pm 0,26$	176,47 $\pm 11,50$
P	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,01	<0,02	<0,001
Травма, 7 сут. n=8	31,94 $\pm 3,38$	77,27 $\pm 7,84$	33,48 $\pm 3,80$	89,91 $\pm 10,88$	2,47 $\pm 0,16$	2,13 $\pm 0,09$	2,42 $\pm 0,10$	2,69 $\pm 0,09$	183,43 $\pm 10,63$
P	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,01	<0,001	<0,001

Приведенные результаты свидетельствуют о том, что после ЧМТ у месячных крыс происходят серьезные нарушения функциональной активности митохондрий мозга. Эти изменения через 1 сутки после ЧМТ проявляются угнетением окисления, и, что особенно важно, угнетается фосфорилирующее окисление V_3 . В это же время нарушается сопряжение в дыхательной цепи, что наиболее заметно по снижению скорости фосфорилирования (АДФ/т). Спустя 4 и 7 суток после ЧМТ дыхание митохондрий почти нормализуется, но по-прежнему остаются нарушенными процессы сопряжения в дыхательной цепи. Можно полагать, что работа митохондрий в посттравматический период не обеспечивает синтез достаточного количества АТФ, и мозговая ткань, вероятно, будет испытывать энергетический дефицит. Следует отметить, что у взрослых животных работа митохондрий к 4-7 суткам посттравматического периода почти нормализуется [1,4].

Изучение активности АТФаз показало, что через 1 сутки после ЧМТ в мозге снижается активность общей АТФазы на 27%, Mg-АТФазы - на 11%, Na, K-АТФазы - на 66%. К 4 суткам посттравматического периода активность АТФаз остается сниженной (общая АТФаза - на 29%, Mg-АТФаза - на 15%, Na, K-АТФаза - на 66%). Спустя 7 суток после травмы отмечается положительная динамика изменений активности АТФаз. Так, активность Mg-АТФазы достоверно не отличается от нормы, а общей и (Na),K-АТФаз - ниже нормы соответственно на 14% и 32% (таблица 2).

Анализируя изменение активности АТФазы, можно заключить, что в динамике посттравматического периода активность фермента наиболее выражено снижается в 1-4 сутки после травмы. К 7 суткам посттравматического периода активность фермента постепенно повышается, но еще не достигает нормы. Активность мембранной АТФазы в посттравматический период снижается в большей степени за счет ее Na,K-субъединицы и в меньшей степени за счет Mg-АТФазы. Можно думать, что угнетение активности АТФазы в посттравматический период обусловлено изменениями в мембранах клеток мозга, которые наступают в результате гипоксии и активации процессов свободно-радикального окисления [3,10].

Снижение активности мембранной АТФазы ведет к уменьшению гидролиза АТФ и нарушению активного транспорта ионов через клеточные мембраны, что создает дисбаланс электролитов в клетках.

Таким образом, ЧМТ у месячных крыс вызывает серьезные изменения процессов биоэнергетики в головном мозге: нарушается окисление и фосфорилирование в митохондриях мозга, угнетается активность мембранной АТФазы. Эти изменения наиболее выражены в 1-4 сутки посттравматического периода. Спустя 7 суток после травмы восстановления

Таблица 2

Активность мембранной АТФазы в головном мозге месячных крыс в динамике черепно-мозговой травмы ($M \pm m$)

Группы животных	Общая АТФаза	Mg-АТФаза	Na,K -АТФаза
	мкмоль Рн/мг белка в час		
Контрольная n=20	3,68±0,06	2,63±0,07	1,05±0,05
Травма, 1 сут. n=10 Р	2,70±0,14 <0,001	2,34±0,12 <0,05	0,36±0,03 <0,001
Травма, 4 сут. n=20 Р	2,61±0,07 <0,001	2,24±0,06 <0,001	0,36±0,02 <0,001
Травма, 7 сут. n=10 Р	3,18±0,04 <0,001	2,47±0,10 >0,05	0,71±0,09 <0,01

процессов биоэнергетики не происходит, хотя и отмечается положительная динамика показателей. У месячных крыс восстановление нормальной функции митохондрий и активности АТФаз в острый посттравматический период происходит медленнее, чем у взрослых животных, у которых эти показатели нормализуются к 7 суткам [2,4]. Нарушение окислительного фосфорилирования и активности АТФаз в посттравматический период, вероятно, обусловлены гипоксией и активацией перекисного окисления липидов в результате травматического повреждения. Отмеченные изменения в биоэнергетике мозга непременно будут способствовать развитию энергетического дефицита, нарушению транспорта электролитов, формированию других патохимических и патофизиологических сдвигов. Отсюда следует, что коррекция энергетического метаболизма в посттравматический период имеет важное значение в профилактике и лечении расстройств, вызываемых ЧМТ. Причем, с учетом приведенных выше данных, в детском возрасте это имеет более существенное значение, чем у взрослых.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Яснецов В.В., Новиков В.Е. Фармакотерапия отека головного мозга.-М.: ВИНТИ, 1994.
- 2 Новиков В.Е., Андреева Т.А.//Деп. ВИНТИ.-1992.-N3338-B92.
- 3 Новиков В.Е. Фармакология ГАМК- и опиоидергической систем при травматическом отеке-набухании головного мозга: Автореф. дис... докт. мед. наук. - М., 1993.
- 4 Шаров А.Н., Новиков В.Е.// Вопр. мед. химии.- 1992.-N 5.- С.24-26.
- 5 Новиков В.Е., Шаров А.Н.//Фармакол. и токсикол. -1991.-N 6.-С.44-46.
- 6 Kovachich G.B., Mishra O.P. //J.Neurochem. -1981. -V.36. - P.333-335.
7. Schibuya J., Honda H., Maruo B.//Arg. Biol. Chem. -1967. -V.31, N1. -P.111-114.
- 8 Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. //J.Biol. Chem. -1951. -V.193, N1.-P.265-275.
- 9 Кокунин В.А.//Укр.биохим.ж.-1975.-М 6.-С.776-791.
10. Промыслов М.Ш. Обмен веществ в мозге и его регуляция при черепно-мозговой травме.-М.,1984.

THE DYNAMIC STATE OF BIOENERGETIC PROCESSES IN BRAIN TISSUES IN NON-ADULT RATS WITH EXPERIMENTAL CRANIO-CEREBRAL INJURY

V.Ye. Novikov, L.A. Kovaleva, N.B. Kozlov, A.N. Sharov

Smolensk State Medical Academy, 214019, Russia, Smolensk, Krupskaya Street, 28

In one month's old rats open cranio-cerebral injury was modelled. During the post-traumatic period the state of bioenergetic processes in brain tissues was studied in dynamics. Disturbance of oxidative phosphorylation in cerebral mitochondria and depression of membranes ATPase activity was revealed. This changes were most expressed in 1-4 days after the injury. Recovery of the impaired bioenergetic processes in post-traumatic period in one month's old rats is slower than in adult.

Key words: oxidative phosphorylation, ATPase activity, cranio-cerebral injury, rat brain.