

К. Г. ГРОМОВА и В. С. ШАПOT

ПРЕВРАЩЕНИЕ ЛАБИЛЬНЫХ ФОСФОРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ГОЛОВНОМ МОЗГУ ПРИ ЕГО АНЕМИИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 10 IV 1951)

Давно известна особая (в отличие от большинства других органов) чувствительность головного мозга к кислородному голоданию, ограничивающая переживание всего организма в условиях аноксии или нарушения кровоснабжения. В свое время одним из нас⁽¹⁴⁾ в развитие представлений В. А. Энгельгардта⁽¹⁶⁾ было выдвинуто положение о том, что физиологическая эффективность энергетического обмена (дыхания или гликолиза) определяется не интенсивностью этих процессов, а способностью их в сопряженных реакциях воссоздавать богатые энергией фосфорные связи, в частности таковые аденозинтрифосфата (АТФ), и поддерживать таким образом нормальное функциональное состояние органа. С этой точки зрения особенности головного мозга как облигатного аэроба рассматривались (в то время еще умозрительно) как результат неспособности мозговой ткани обеспечивать ресинтез макроэргических фосфорных соединений за счет анаэробных процессов гликолиза. В дальнейшем рядом авторов было экспериментально показано^(1, 3, 8, 10) наличие связи между функциональным состоянием головного мозга, в частности коры, и содержанием в ней АТФ и фосфо-креатина (ФК), а также влияние аноксии и анемии^(4, 7), вызывающих падение содержания этих соединений в коре.

В нашей лаборатории были предприняты исследования превращений лабильных фосфорных соединений в головном мозге на фоне неполной экспериментальной анемии. Объектом служили белые крысы, у которых неполная анемия достигалась одновременной перевязкой обеих сонных артерий, отсепарованных от ветвей блуждающего нерва и вен*.

Операция производилась без наркоза и продолжалась 10 мин., после чего разрез на шее зашивался. Среди исследованных животных (53) было выявлено два типа, различающиеся по характеру течения анемии, которые ранее описаны в лаборатории Петрова Васильевым⁽¹¹⁾. Условно эти две группы крыс мы называем «судорожными» и «бессудорожными». У крыс бессудорожной группы мозг исследовался через 24 часа после перевязки (их выживаемость при общем угнетенном, сонном состоянии достигала 2 суток), а у судорожных — через 5—8 час., так как животные последней группы не выживают более 12 час. после перевязки. Однако и за это короткое время (5—8 час.) у них удается наблюдать типичную картину кислородного голодания мозга, последовательно захватывающего все отделы его в том порядке их чувствительности к недостатку кислорода, которая отмечена Васильевым.

Мозг извлекался целиком (за исключением обонятельных долей) и быстро (в течение не более 2 сек.) переносился в жидкий воздух. Опе-

* Пользуемся случаем выразить здесь благодарность И. Р. Петрову за ценные методические указания.

Таблица 1

Серия животных	Содержание АТФ			Содержание ФК		Содерж. неорг. фосфата		
	n	Определ. 10-мин. гидролизом в 1 N HCl	n	Определ. миозином	n	n	n	
Судорожные . . .	14	3,3—6,6—12,2	14	0—1,6—4,9	7	2,6—9,5—13,0	12	27,2—37,4—49,8
Бессудорожные . .	19	4,5—10,2—14,0	8	3,0—6,0—10,7	2	14,8—14,8	8	16,6—28,4—34,3
Контрольные . . .	15	8,13—13,81—16,5	6	11,0—13,3—16,5	5	9,34—11,79—16,0	7	20,3—25,2—28,3

крыс появляется легко гидролизуемое фосфорное соединение, не разщепляемое миозином, т. е. отличное от АТФ. Оно осаждается Ва, причем кривая гидролиза его бариевой соли в 1 N HCl повторяет типичную кривую гидролиза чистой АТФ (см. рис. 1). Все указанное приводит к заключению, что это легко гидролизуемое фосфорное соединение является аденозиндифосфатом (АДФ). Применение в отдельных опытах комбиниро-

вания велась под легким — 5-минутным — эфирным наркозом. Замороженный мозг растирался в жидком воздухе и в виде порошка переносился в заранее взвешенную и охлажденную 10% или 4% (для определения ФК) трихлоруксусную кислоту (ТХУ) в отношении 1:10. АТФ определялся по нарастанию неорганического фосфора после 10-минутного гидролиза 1 N HCl в ТХУ-фильтрате или в бариевом осадке из него, причем производилось сравнение кривых гидролиза последних с таковой препарата АТФ. Одновременно был применен специфический энзиматический метод определения АТФ посредством миозина. Энзиматическая реакция велась при pH 8,4 и боратном буфере. Инкубация 20—30 мин. при 30°, затем в параллельной пробе проводился 10-минутный гидролиз в 1 N HCl. Параллельно каждому опыту определялась способность данного образца миозина дефосфорилировать препарат чистой АТФ в процентах от теоретической величины (50% гидролизуемого фосфора) для пересчета данных опыта. Миозин получали по Сент-Дьорди (13), миокиназу — по (6).

ФК определялся в фильтрате после осаждения АТФ и неорганического фосфата 25% уксуснокислым барием при pH 8. Фосфор учитывался по Фиске — Зуббаров с применением ступенчатого фотометра. Одновременно ставился двойной контроль: измерялось содержание АТФ и ФК у нормального животного и у крысы, перенесшей отделение артерий от ветвей п. vagi и вен без последующей перевязки. Никакой разницы в обоих случаях обнаружено не было. Цифровые данные, выраженные в мг% к сырому весу ткани мозга, приводятся в виде крайних и средних от числа опытов (n).

Как видно из табл. 1, анемия мозга вызывает у обеих групп крыс, но в различной степени, падение содержания АТФ, определенно по нарастанию легко гидролизуемого фосфора; однако гораздо нагляднее эти нарушения выступают при анализе, включающем энзиматический метод. Последний позволяет обнаружить в ряде случаев (у судорожной группы) полное исчезновение истинной АТФ при сохранении у них еще заметного количества легко гидролизуемого фосфора. Разница в содержании АТФ, определенного обоими методами, обнаруживается и у бессудорожных животных (см. рис. 2), в то время как у нормальных данные обоих методов совпадают.

Отсюда следует, что в мозге анемизированных

рованного энзиматического анализа (миозин + миокиназа) подкрепляет это заключение, ибо в этих условиях легко гидролизуемый фосфор, не отщепляемый одним миозином, полностью минерализуется миокиназой (см. табл. 2).

Таким образом, оказывается, что наиболее характерным биохимическим сдвигом в соотношении лабильных фосфорных соединений при анемизировании головного мозга является появление АДФ (которую у нормальных животных уловить не удается), а не понижение содержания в нем легко гидролизуемого фосфора во фракции АТФ, ибо в отдельных случаях такого понижения по сравнению с контролем вообще не отмечается.

Даже при рассмотрении сводных данных (см. табл. 1) бросается в глаза, что и при полном исчезновении АТФ (судорожная группа) в мозге остается примерно такое же количество АДФ, как и у бессудорожных, с относительно высоким по отношению к первой группе содержанием АТФ. Это обстоятельство указывает на то, что, повидимому, в первую очередь в «функциональный» (15) обмен вовлекается терминальная фосфатная группа АТФ. Это соответствует старым

Таблица 2

№ опыта	Группа крыс	Содержание Р АТФ		
		10-мин. гидролиз в 1 N HCl после действия миозина	миозин	миозин + миокиназа
50	Бессудорожная	11,2	5,1	11,6

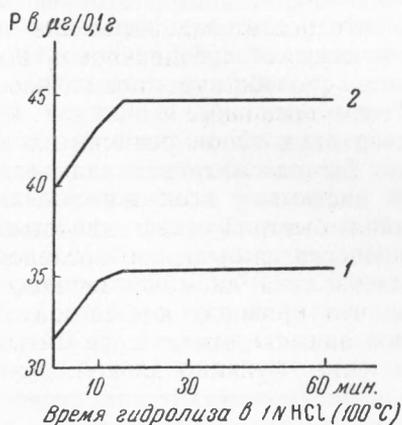


Рис. 1. Кривые гидролиза лабильного фосфорного соединения из мозга «судорожной» крысы, не содержащего АТФ (ноль по миозину). Опыт № 64. 1 — бариевый осадок, 2 — трихлоруксусный фильтрат

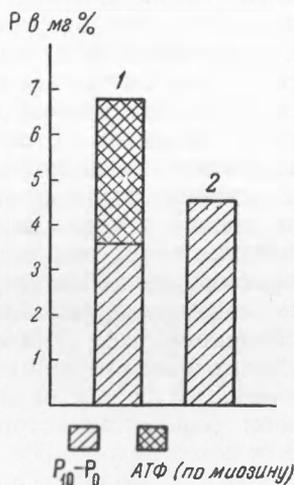


Рис. 2. Содержание АТФ и АДФ в мозге. 1 — опыт № 51 («бессудорожная» крыса), 2 — опыт № 60 («судорожная» крыса)

литературным работам с P^{32} об особенно быстром обмене 3-го фосфатного остатка АТФ в опытах *in vitro*. Вместе с тем, появление АДФ, как продукта дефосфорилирования АТФ, наводит на мысль, что в мозге распад АТФ может происходить не только гидролитическим путем, но и посредством переброски ее конечной фосфатной группы на какие-то акцепторы, ибо в мозге не найдена аденозинтрифосфатаза типа миозина, а установлено лишь наличие апиразы, гидролизующей обе лабильные группы АТФ. Этим, разумеется, не исключается возможность дефосфорилирования АТФ в мозге до адениловой кислоты через стадию АДФ. Нарастание содержания аммиака (2) в мозге при возбуждении

ЦНС (судороги), вероятно, объясняется дезаминированием адениловой кислоты, возникающей из АТФ двумя путями — прямым, гидролитическим и косвенным, через АДФ.

В соответствии с интенсивностью дефосфорилирования АТФ в мозге анемизированных животных повышается и содержание в нем неорганического фосфата (см. табл. 1). Следует, однако, отметить, что абсолютные цифры последнего (представляющие у нас сумму истинного неорганического фосфата и ФК) у нормальных животных значительно ниже, чем в опытах Е. Ф. Иваненко⁽⁵⁾, ибо последняя не применяла необходимых предосторожностей (замораживание) при взятии и обработке мозга. Содержание ФК в мозге при анемии меняется сравнительно мало и некоторое падение, однако никогда не доходящее до нуля, наблюдается лишь у отдельных экземпляров судорожной группы.

Таким образом, несмотря на распад в головном мозге АТФ и появление АДФ, в нем сохраняется значительное количество ФК; например, опыт № 64: АТФ — 0; АДФ — 3,3; ФК — 11 мг%. Здесь в условиях анемии, в отличие от реакции, характерной для мышцы⁽¹²⁾, фосфатный остаток ФК не переносится на АДФ и, следовательно, ФК не служит «фосфатным резервуаром» для адениловой системы.

Резкие сдвиги в уровне макроэргических фосфорных соединений в головном мозге при его анемии, особенно резко выраженные у судорожной группы крыс, могли бы быть истолкованы следующим образом. В головном мозге этих животных, реагирующих на недостаток кислорода как на чрезмерный раздражитель усиленной функциональной деятельностью (периодические приступы судорог), имеет место повышенный расход богатых энергией фосфорных соединений (АТФ). Однако в связи с нарушением кровоснабжения мозга, расход этот не компенсируется полностью из-за пониженного ресинтеза. Угнетение окислительного фосфорилирования, энергетически обеспечивающего нормальное функциональное состояние мозга, способствует появлению тяжелых патологических нарушений во всем организме.

В заключение укажем, что наличие двух типов реакции на анемию головного мозга у крыс можно было бы рассматривать как следствие существования двух типов нервной системы у этих животных. Один тип, характеризующийся «чрезвычайно быстрой реактивностью, чувствительностью раздражительного процесса с быстрым последовательным истощением его» (Павлов), отвечает на анемию периодическим острым двигательным возбуждением, что приводит к быстрой гибели животного. Другой тип реагирует на анемию стойким разлитым тормножением (сон), при котором угнетение функциональной деятельности обеспечивает экономное расходование энергетических ресурсов головного мозга в условиях анемии и позволяет выиграть время для перестройки организма (расширение коллатеральных путей).

Институт экспериментальной медицины
Академии медицинских наук СССР

Поступило
30 III 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Е. Б. Бабский, Тез. 13-го совещ., посвящ. памяти И. П. Павлова.
² Е. А. Владимирова, Физиол. журн., 25, 930 (1938). ³ А. Е. Гурвич и М. Н. Ливанов, Бюлл. эксп. биол. и мед., 25, в. 3, 185 (1948). ⁴ А. Е. Гурвич, М. И. Левянт и Г. А. Ерзина, Биохимия, 15, 541 (1950). ⁵ Е. Ф. Иваненко, Укр. биох. журн., 21, 356 (1949). ⁶ А. В. Котельникова, Биохимия, 14, 145 (1949). ⁷ Г. П. Курохтина, И. И. Малкиман и И. И. Парфенова, Укр. биох. журн., 22, № 1, 85 (1950). ⁸ М. И. Левянт, И. И. Малкиман и Б. И. Каменецкая, там же, 21, 363 (1949). ⁹ П. Ф. Минаев и Г. П. Курохтина, там же, 21, 369 (1949). ¹⁰ П. Ф. Минаев, там же, 21, 368 (1949). ¹¹ И. Р. Петров, Кислородное голодание головного мозга, 1949. ¹² Е. Г. Сорени и Р. Г. Дегтярь, Укр. биохим. журн., 20, 250 (1948). ¹³ Г. Сцент-Дьорди, О мышечной деятельности, 1947. ¹⁴ В. С. Шапот, Диссертация, ЛГУ, 1947. ¹⁵ В. А. Энгельгардт, Стенографич. отчет Объедин. сессии АН и АМН СССР, июнь 1950. ¹⁶ В. А. Энгельгардт, Изв. АН СССР, сер. биол., № 2, 182 (1945).