

УДК 576.314:612.8.015.616—059.5—031.81—02.616.831—616.15—071.8

А. И. Кушинская

АКТИВНОСТЬ Na^+ , K^+ -АТФазы В РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ ЭФИРНОГО НАРКОЗА

В литературе имеются данные о том, что вещества угнетающего типа действия — общие анестетики, снотворные, седативные средства снижают активность Na^+ , K^+ -АТФазы головного мозга [8, 10, 11, 14, 15, 17, 19]. Однако эти опыты проводились *in vivo* только в коре головного мозга либо на гомогенатах целого мозга без учета сравнительной реактивности различных структур центральной нервной системы.

Мы изучали сравнительную активность Na^+ , K^+ -АТФазы в микросомах коры больших полушарий и таламуса в условиях эфирного наркоза при комплексной постановке опытов.

Методика исследований

Опыты проведены на 27 собаках — 9 контрольных и 18 опытных. Опытные животные были разделены на две группы. Животных I группы наркотизировали эфиром с помощью наркозного аппарата Наркон-А в течение 20 мин по схеме: 1 мин — 1 об %, 4 мин — 4 об %, 15 мин — 6 об %, животных II группы — 10 об % от начала до конца опыта — 60 мин. Количество эфира в артериальной крови определяли бихроматным методом перед умерщвлением животных 20 % раствором KCl , вводимым внутривенно в дозе 1 мл/кг веса. Для исследования корково-подкорковых взаимоотношений в условиях наркоза регистрировали спонтанную биоэлектрическую активность (ЭКоГ) сенсомоторной зоны коры больших полушарий (КБП) и таламуса (ЭТалГ). Электроды погружали в исследуемые структуры головного мозга согласно координатам для собак [1]. В процессе опыта регистрировали также ЭКГ, артериальное давление (АД), внешнее дыхание.

Для изучения АТФазной активности из тканей КБП и таламуса получали микросомальную фракцию методом дифференциального центрифугирования в 0,25 М растворе сахарозы. Для контроля было проведено электронномикроскопическое исследование полученной фракции микросом. С помощью ручного стеклянного гомогенизатора с тефлоновым поршнем из тканей головного мозга готовили 10 % гомогенат в 0,25 М растворе сахарозы, центрифугировали его на протяжении 20 мин при 8500 g. Полученную надосадочную жидкость центрифугировали на протяжении 40 минут при 25000 g. Вторичный осадок гомогенизировали в 0,25 М растворе сахарозы ручным гомогенизатором. Объем суспензии микросом составлял 1,2 мл. В этом гомогенате определяли АТФазную активность. Инкубационная среда состояла из 2 ммоль MgCl_2 , 100 ммоль NaCl , 200 ммоль KCl , 50 ммоль, трис- HCl -буфер, 2 ммоль АТФ. Суспензию микросомальной фракции добавляли из расчета 200 мкг белка на 1,5 мл инкубационной смеси. Инкубацию проводили при 37°C в течение 10 мин. Реакцию прекращали добавлением 1 мл 10 % раствора трихлоруксусной кислоты. Определяли активность Mg^{++} , Na^+ , K^+ -АТФазы и Mg^{++} -АТФазы. Последнюю измеряли при полном катионном составе инкубационной смеси, но при наличии 1×10^{-4} раствора строфантина К. По разнице между этими двумя величинами вычисляли величину Na^+ , K^+ -АТФазной активности, угнетаемой строфантином. Ферментную активность выражали в мкмоль фосфора на 1 мг белка в час (мкмоль Р/мг белка/ч). Содержание белка определяли по Лоури [16], фосфора — по Фiske — Суббароу [13]. Результаты обрабатывали методом вариационной статистики по [9].

Результаты исследований

Наблюдения показали, что при 20 мин эфирном наркозе, когда концентрация эфира в артериальной крови составляла $96,8 \pm 9,65$ мг %, существенных изменений исследуемых нами функций организма не наб-

людалось. АД составляло $108,7 \pm 6,38$ мм рт.ст. Число и амплитуда дыхательных экскурсий почти не изменялись и составляли $55,7 \pm 9,82$ экск./мин и $7 \pm 1,32$ мм. Ритм сердечных сокращений не изменялся. Не обнаружены существенные изменения и на электроэнцефалограммах исследуемых структур центральной нервной системы. На ЭКоГ и ЭТалГ наблюдалось только некоторое снижение амплитуды быстрых колебаний по сравнению с исходным уровнем.

В этих условиях изменений Na^+ , K^+ -АТФазной активности в изучаемых отделах головного мозга по сравнению с контролем не наблюдали (см. таблицу). Активность Na , K -АТФазы в контроле составляла в коре $12,85 \pm 1,23$ мкмоль Р/мг белка/ч, в таламусе — $11 \pm 1,59$ мкмоль Р/мг белка/ч, через 20 мин эфирного наркоза, соответственно, $12 \pm 1,67$ и $8,4 \pm 1,09$. Тенденция к снижению Na^+ , K^+ -АТФазной активности в таламусе оказалась недостоверной ($p < 0,2$).

Во II опытной группе при часовом эфирном наркозе на 60 минуте концентрация эфира в артериальной крови составляла $128,9 \pm 6,92$ мг%. На 39 % снизилось АД ($p < 0,001$) и составляло $83 \pm 9,32$ мм рт.ст. Число и амплитуда дыхательных экскурсий равнялись $70,3 \pm 12,43$ экск./мин и $5,1 \pm 0,89$ мм, что на 20 и 41 % соответственно ниже исходных. Но это снижение статистически недостоверно ($p < 0,5$ и $< 0,2$). Число сердечных сокращений возросло на 64 %.

Биоэлектрическая активность таламуса характеризовалась преобладанием медленноволновой активности и значительным уменьшением количества быстрых колебаний. На ЭТалГ число и амплитуда волн частого ритма типа «бета» уменьшились на 59 % ($p < 0,001$) и 21 % ($p < 0,001$) и составляли $5,5 \pm 0,68$ кол/с и $27,5 \pm 2,66$ мкВ. Количество и амплитуда альфа-волн не изменились и составляли $1,8 \pm 0,37$ кол/с и $48,8 \pm 7,84$ мкВ. Число высокоамплитудных дельта-волн возросло в три раза до $0,8 \pm 0,46$ кол/с и $90 \pm 7,17$ мкВ.

На ЭКоГ число и амплитуда бета-волн снизились на 23 % ($p < 0,01$) и 22 % ($p < 0,001$) и составляли $11,8 \pm 0,72$ кол/с и $35 \pm 2,96$ мкВ. Количество альфа-волн не отличалось от исходного и равнялось $2,4 \pm 0,52$ кол/с с амплитудой $48,7 \pm 9,34$ мкВ. В отдельных опытах появились единичные дельта-волны ($0,5 \pm 0,23$ кол/с и $70 \pm 34,33$ мкВ).

При анализе и сопоставлении биопотенциалов в коре больших полушарий и таламусе можно видеть, что изменения в таламусе носили более выраженный характер, чем в коре. Такому неодинаковому характеру биопотенциалов ЭКоГ и ЭТалГ соответствовали и различные изменения Na^+ , K^+ -АТФазной активности в этих структурах (см. таблицу). Активность Na^+ , K^+ -АТФазы в коре не отличалась от уровня ее

Влияние эфирного наркоза на активность Na , K -АТФазы микросом

Структуры мозга	Контроль			20 мин эфирный	
	АТФазная активность			АТФазная	
	общая	Mg	Na, K	общая	Mg
Кора	$22,65 \pm 1,78$	$9,8 \pm 0,72$	$12,85 \pm 1,23$	$26,51 \pm 4,96$	$14,5 \pm 3,69$
Таламус	$22,1 \pm 1,67$	$11,1 \pm 1,12$	$11 \pm 1,58$	$19 \pm 3,38$	$10,6 \pm 2,32$

в контрольной группе и составляла $10,1 \pm 0,97$ мкмоль Р/мг белка/ч ($p < 0,2$); в таламусе эта активность снизилась на 38 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем — до $6,9 \pm 0,7$ мкмоль Р/мг белка/ч.

Обсуждение результатов исследований

Результаты наблюдений II серии опытов показали, что к концу 60 мин наркоза при концентрации эфира в артериальной крови $128,9 \pm 6,92$ мг% АД снизилось на 39 %. Дыхание существенно не изменилось. Изменения ЭТалГ были более выраженными, чем ЭКоГ. Эти факты согласуются с наблюдениями [3—7], свидетельствующими о том, что в процессе углубления эфирного наркоза в реакцию вовлекаются подкорковые центры головного мозга. В условиях наших опытов при этом наблюдались различия и в активности Na^+ , K^+ -АТФазы изучаемых структур центральной нервной системы. Активность Na^+ , K^+ -АТФазы в коре существенно не отличалась от показателей ее в контрольной группе животных. Иные результаты наблюдались при анализе изменений этой активности в таламусе. У опытных животных Na^+ , K^+ -АТФазная активность снизилась на 38 % по сравнению с контрольной группой.

В литературе описано угнетение Na^+ , K^+ -АТФазной активности микросом головного мозга кроликов и крыс под влиянием этилового эфира, хлороформа, фторэтана, этанола [14, 15, 17, 19]. Однако, эти исследования проводились *in vitro* на гомогенатах целого мозга. Эти данные могут дать только общее представление о реакции элементов центральной нервной системы на действие наркотиков, но они не дают представления о сравнительной активности ферментов различных отделов центральной нервной системы. В этом отношении наши наблюдения углубляют представления о механизме действия эфира на головной мозг.

Выводы

1. При концентрации эфира в артериальной крови $96,8 \pm 9,65$ мг% через 20 мин наркоза, Na^+ , K^+ -АТФазная активность в коре больших полушарий и таламусе не изменяется.

2. При 60 мин наркозе, когда концентрация эфира в крови составляла $128,9 \pm 6,92$ мг% активность Na^+ , K^+ -АТФазы в коре существенно не изменялась, а в таламусе — уменьшалась на 38 %.

кору больших полушарий и таламуса (мкмоль Р/кг белка/ч)

наркоз активность	Эфир крови, мг %	60 мин эфирный наркоз АТФазная активность			Эфир крови, мг %
		общая	Mg	Na, K	
Na, K					
$12,0 \pm 1,67$ <0,5	$96,8 \pm 9,65$	$24 \pm 2,8$	$13,9 \pm 2,9$	$10,1 \pm 0,97$ <0,2	$128,9 \pm 6,92$
$8,4 \pm 1,09$ <0,2		$19,8 \pm 3,0$	$12,9 \pm 2,87$	$6,9 \pm 0,78$ <0,05	

A. I. Kushchinskaya

ACTIVITY OF Na, K-ATPase IN DIFFERENT STRUCTURES
OF THE BRAIN UNDER CONDITIONS OF ETHER ANESTHESIA

Summary

Experiments on dogs showed the effect of ether anesthesia on the Na, K-ATPase activity in microsomes of the cerebral cortex and thalamus. No changes are observed in the Na, K-ATPase activity of the cerebral cortex and thalamus when the concentration of ether in the arterial blood is 96.8 ± 9.65 mg %. But when the ether concentration in the arterial blood is 128.9 ± 6.92 mg % the Na, K-ATPase activity is lower in the thalamus and remains unchanged in the cortex.

Department of Pharmacology,
Medical Institute, Dnepropetrovsk

Список литературы

1. Адрианов О. С., Меринг Т. А. Атлас мозга собаки. М.: Медгиз, 1959. 236 с.
2. Анохин П. К. Нейрофизиологические основы новой теории наркоза.— В кн.: Тез. докл. науч. сессии по проблеме: Новые методы диагностики, лечения и профилактики важных заболеваний и итоги внедрения их в практику. М., 1961, с. 34—35.
3. Батрак Г. Е. Боль, шок, наркоз. Киев: Здоров'я, 1965. 213 с.
4. Батрак Г. Е. Проблема обезболивания. Киев: Госмедиздат УССР, 1957. 202 с.
5. Батрак Г. Е., Бондарь В. К., Гутина М. А., Доронин А. Г., Зеленко Е. Т., Неруш П. А. Реактивность ЦНС в условиях наркоза.— В кн.: Материалы III съезда фармакологов СССР. Киев, 1971, с. 20—21.
6. Батрак Г. Е., Гутина М. А. Влияние эфирного наркоза на дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий различных отделов головного мозга.— Фармакология и токсикология, 1973, 36, № 4, с. 405—406.
7. Батрак Г. Е., Хрусталева С. И., Зеленко Е. Т. и др. О сравнительной реактивности различных отделов центральной нервной системы при наркозе в зависимости от экстремальных влияний и характера премедикации.— В кн.: Вопросы клинической и теоретической медицины. Днепропетровск, 1978, с. 123—124.
8. Доведова Е. Л. Распределение активности ацетилхолинэстеразы, а также Mg^{2+} и Na, K-стимулируемых АТФаз в субклеточных фракциях мозга в норме и при введении трифтазина.— Вopr. мед. химии, 1974, 20, № 5, с. 528—533.
9. Монцевичюте-Эрингене Е. В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работы.— Патол. физиология и эксперим. терапия, 1964, 13, № 4, с. 71—78.
10. Паэсалу Э. И., Тарве У. С., Тяхэпыльд Л. Я. Сравнительное действие психотропных средств на ориентировочно-двигательные реакции и активность Na, K-АТФазы мозга.— Фармакология и токсикология, 1979, № 1, с. 7—11.
11. Шеленкова С. А. Влияние комбинированного введения фенobarбитала и 2-метил-3-(о-хлорфенил) хиразолона-4 с гидрокортизоном на динамику содержания кортикостероидов в крови и АТФазную активность головного мозга крыс.— Фармакология и токсикология, 1976, № 5, с. 529—531.
12. Arduini A., Arduini M. Effects of durative and metabolic alteration on the brain stem arousal mechanism.— J. Pharm. and Expt. Therap., 1954, 110, N 1, p. 76—85.
13. Fiske C. H., Subbarow Y. The colometric determination of phosphorus.— J. Biol. Chem., 1925, 66, N 3, p. 375—400.
14. Israel Y., Salazar I. Inhibition of brain microsomal adenosine triphosphatases by general depressants.— Arch. Biochem. Biophys., 1967, 122, N 2, p. 310—317.
15. Israel Y., Kalant H., Laufer I. Effects of ethanol on Na, K, Mg stimulated microsomal ATPase activity.— Biochem. Pharmacol., 1965, 14, N 12, p. 1803—1814.
16. Lowry O. H., Rosebrough N. I., Farr A. L., Randall R. L. Protein measurement with the Folin phenol reagent.— J. Biol. Chem., 1951, 193, N 2, p. 265—276.
17. Pincus J. H., Gierman N. J. Microsomal ATPase of rabbit brain and effects of general anesthetics.— Biochem. Pharmacol., 1967, 16, N 9, p. 1370—1374.
18. Sparks D. L., Corsen G., Sides J., Black J., Knoleif A. Ketamine-induced anesthesia neural mechanisms in the rhesus monkey.— Anesth. and Analg. Curr. Res., 1973, 52, N 2, p. 288—297.

Днепропетровский
медицинский институт

Поступила в редакцию
21.VI 1979 г.