

ОКИСЛЕНИЕ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ В
 РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ И СУБКЛЕТОЧНЫХ ЧАСТИЦАХ
 ГОЛОВНОГО МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС ПРИ СТАРЕНИИ

Э. Г. АДУНЦ, Ж. А. ПАРОНЯН, Г. В. АПРИКЯН

Показано, что интенсивность окисления глутаминовой кислоты в очищенной митохондриальной и синаптосомальной фракциях, полученных из коры мозга белых крыс, в старческом возрасте не претерпевает изменений. Указанный процесс в филогенетически более старом отделе мозга (стволовая часть) подвергается большему возрастным сдвигам, нежели в молодом (кора).

Изучение особенностей окисления различных субстратов в мозговой ткани и выявление возможностей их регулирования в старческом возрасте является одной из актуальных задач современной геронтологии. Хотя в этом направлении проведен ряд исследований [1—8], многие вопросы остаются еще невыясненными. В нашей лаборатории ранее было показано, что глутаминовая кислота (ГК) сама по себе слабо окисляется в неочищенной митохондриальной фракции, полученной из целого мозга белых крыс, и не подвергается существенным возрастным сдвигам. При использовании АДФ интенсивность окисления ГК резко возрастает. Этот процесс в старческом возрасте значительно снижается [9—11]. В настоящей работе нами изучалась интенсивность окисления ГК в субфракциях неочищенной митохондриальной фракции и различных частях мозга белых крыс при старении.

Материал и методика. Исследования проводили на белых крысах трех возрастных групп: половозрелых (4—6-месячные), годовалых и старых (24-месячные).

Первую серию опытов проводили на очищенной митохондриальной и синаптосомальной фракциях. В каждом опыте, в зависимости от возраста, были использованы 15—18 животных. Животных обезглавливали, извлекали большие полушария мозга и помещали их в 0,164 М раствор KCl. Все процедуры проводили при температуре 2—4°. Из коры мозга готовили 10%-ный гомогенат на 0,32 М растворе сахарозы, содержащий 1 ммоль ЭДТА, pH 7,4. Получение неочищенной митохондриальной фракции и ее последующее разделение на очищенную митохондриальную, синаптосомальную и миелиновую фракции проводили по Виттекеру с некоторыми изменениями [12—15]. На пробу брали 1 мл очищенной митохондриальной или синаптосомальной суспензии, приготовленной на 0,32 М растворе сахарозы, соответствующей 4—5 мг белка фракции.

Во второй серии опытов из коры и стволовой части мозга зрелых, годовалых и старых крыс готовили 20%-ный гомогенат на 0,32 М сахарозе. На каждую пробу брали 1 мл гомогената. Пробу инкубировали в К-фосфатном буфере, pH 7,4 [9]. Общий объем инкубационной смеси составлял 2 мл.

Дыхание определяли манометрическим методом Варбурга в течение 30 мин после 10-минутного выравнивания в атмосфере кислорода при 37°, белок—по Лоури [16] с

видоизменениями Хесс и Левина [17]. Субстратом окисления служила ГК в концентрации 10 ммоль, модулятором дыхания—АДФ в концентрации 2 ммоль. ГК и АДФ были получены из Sigma Chemical Company.

Результаты и обсуждение. Полученные нами данные показали, что эндогенное дыхание очищенных митохондрий, полученных из коры мозга белых крыс, у старых животных по сравнению с годовалыми не подвергается существенным изменениям. Отмечается лишь некоторое снижение, которое статистически недостоверно (табл. 1). У годовалых животных оно выражено стимулируется под действием АДФ, в то время как у старых животных АДФ не оказывает существенного влияния на этот процесс. У старых животных происходит некоторое снижение эндогенного дыхания, которое статистически недостоверно. Следует отметить, что интенсивность окисления ГК в очищенных митохондриях, полученных из коры мозга, не подвергается особым изменениям в старческом возрасте. Данные табл. 1 показывают, что АДФ усиливает

Таблица 1

Интенсивность окисления глутаминовой кислоты в очищенной митохондриальной и синаптосомальной фракциях коры мозга крыс при старении.
мкмоль O_2 /100 мг белка/30 мин

Возраст животных	Контроль	АДФ		ГК		ГК+АДФ	
		количество	разница	количество	разница	количество	разница
Митохондриальная фракция							
Годовалые	26,21±1,19 (8)	34,14±1,21 (7)	7,93	42,89±1,13 (8)	16,68	63,68±1,61 (8)	37,47
Старые	23,04±1,54 (7) p>0,1*	18,92±0,74 (7) p<0,001	-4,12	40,94±1,96 (8)	17,0	77,21±2,90 (8) p<0,001	54,17
Синаптосомальная фракция							
Годовалые	26,51±2,8 (8)	34,83±1,39 (8)	6,32	53,48±1,94 (8)	24,97	62,03±2,5 (8)	33,52
Старые	25,95±2,22 (8) p>0,4	28,32±2,48 (8) p<0,05	2,37	52,11±2,26 (8) p>0,5	26,16	61,62±3,5 (8) p>0,5	35,67

* p — по сравнению с предыдущим возрастом.

этот процесс у годовалых животных в 2,25 раза, а у старых в 3 раза. Таким образом, интенсивность окисления ГК в присутствии АДФ в старческом возрасте, вопреки ожиданиям, не только не снижается, но и выражено усиливается.

Интенсивность эндогенного дыхания синаптосомальной фракции (табл. 1) также не подвергается возрастным изменениям. У годовалых животных АДФ значительно стимулирует этот процесс. Указанный эффект у старых животных выражен слабо. Интенсивность окисления

ГК независимо от присутствия АДФ не подвергается изменениям в старческом возрасте.

Следует заметить, что в синапсомальной фракции, в отличие от очищенной митохондриальной, окисление ГК под действием АДФ стимулируется относительно слабо (в 1,34 и 1,36 раза у годовалых и старых животных соответственно).

Приведенные данные о возрастных особенностях окисления ГК в очищенных митохондриях из коры мозга белых крыс не согласуются с результатами ранее проведенной работы с неочищенной митохондриальной фракцией из целого мозга белых крыс, свидетельствующими о значительном снижении интенсивности окисления ГК в старческом возрасте [11]. Следует отметить, что полученные ранее данные были выражены на грамм свежей ткани мозга, однако надо иметь в виду, что количество митохондриального белка при старении не подвергается изменениям (табл. 2).

Таблица 2

Распределение белков во фракциях коры мозга крыс при старении, мг/г свежей ткани

Возраст животных	Фракции			
	неочищенная митохондриальная	очищенная митохондриальная	синапсомальная	миелиновая
Годовалые	29,53±0,37 (8)	3,57±0,17 (10)	8,61±0,25 (10)	3,25±0,1 (8)
Старые	30,30±0,69 (10) p>0,2	3,95±0,15 (10) p>0,2	8,33±0,11 (10) p>0,5	4,25±0,2 (10) p<0,001

Для выяснения причин разноречивости полученных результатов мы изучили окисление ГК в различных частях головного мозга белых крыс при старении, исходя из литературных данных о том, что при старении дыхание в больших полушариях не подвергается особым изменениям, а в стволе мозга выражено снижается [18, 19].

Полученные результаты показали, что эндогенное дыхание гомогенатов коры мозга и интенсивность окисления ГК без АДФ в старческом возрасте не подвергаются особым изменениям (табл. 3). Заметим, что степень окисления ГК в присутствии АДФ в весьма высокой степени снижается к годовалому возрасту. У старых животных также отмечается некоторое снижение, однако оно статистически недостоверно ($P>0,05$). Примечательно, что АДФ в гомогенатах коры мозга значительно больше стимулирует окисление ГК, нежели в очищенных митохондриях и синапсоматах, полученных из коры мозга. У половозрелых, годовалых и старых животных АДФ стимулирует окисление ГК соответственно в 12,9; 8,6; 5,8 раза, т. е. по мере старения животных стимулирующий эффект АДФ постепенно снижается.

Данные, приведенные в табл. 3, показывают, что, в отличие от гомогенатов коры, в гомогенатах ствола мозга старых крыс по сравнению

Таблица 3

Интенсивность окисления глутаминной кислоты гомогенатами коры и ствола мозга крыс при старении, мкмоль O_2 /г свежей ткани/30 мин

Возраст животных	Контроль	ГК		ГК+АДФ	
		количество	разница	количество	разница
К о р а м о з г а					
Зрелые	29,41±0,47 (6)	32,6 ±1,29 (6)	3,19	70,58±0,66 (6)	41,17
Годовалые	29,59±0,9 (6) p>0,5	32,13±0,36 (6) p>0,2	2,54	51,30±2,13 (6) p<0,001	21,71
Старые	27,96±0,92 (6) p>0,2	31,08±0,8 (6) p>0,5	3,19	46,48±1,34 (6) p>0,05	18,52
С т в о л м о з г а					
Зрелые	26,41±1,04 (6)	28,80±1,07 (6)	2,39	48,07±2,59 (6)	21,66
Годовалые	27,45±0,92 (6) p>0,4	30,92±0,82 (6) p>0,1	3,47	36,97±1,28 (6) p<0,005	9,52
Старые	23,98±0,38 (6) p<0,01	25,83±0,5 (6) p<0,001	1,85	32,03±1,09 (6) p<0,0025	8,05

с годовалыми животными четко снижается эндогенное дыхание, а также интенсивность скисления ГК как в присутствии, так и в отсутствие АДФ. Данные по гомогенатам стволовой части мозга выражены в мкмоль O_2 /грамм свежей ткани. Количество белка в указанных отделах мозга при старении не подвергается изменениям (табл. 4).

Таблица 4

Содержание белков в гомогенатах мозга крыс при старении, мг/г свежей ткани

Возраст животных	Части мозга	
	кора	ствол
Зрелые	87,73±0,88 (12)	87,93±0,88 (12)
Годовалые	85,44±1,84 (12) p>0,2	87,39±1,20 (12) p>0,5
Старые	80,33±4,16 (6) p>0,2	86,00±2,01 (6) p>0,5

Результаты, полученные нами, свидетельствуют о том, что филогенетически более древний отдел головного мозга (стволовая часть) по изученным показателям больше подвергается старческим изменениям,

чем филогенетически более новое образование (кора). Тот факт, что в коре мозга возрастные сдвиги выражены слабее или вовсе не обнаруживаются, хотя в ней происходят существенные морфологические изменения [20, 21], позволяет сделать заключение, что для поддержания относительно высокого уровня метаболических процессов подключаются соответствующие компенсаторные механизмы.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 20.VII 1978 г.

ՇԵՐԱՑՄԱՆ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ ԳԼՈՒՏԱՄԻՆԱԹՔՎԻ ՕՔՍԻԴԱՑՈՒՄԸ
ԵՎ ՆՐԱ ԿԱՐԳԱՎՈՐՈՒՄԸ ԳԼԵՈՒԴԵԿՎԻ ՏԱՐԲԵՐ ՄԱՍԵՐՈՒՄ
ԵՎ ԵՆԹԱԲՋՁԱՅԻՆ ՏԱՐԲԵՐՈՒՄ

Է. Գ. ԱԳՈՒՆՅ, Ժ. Ա. ՊԱՐՈՆՅԱՆ, Գ. Վ. ԱՊՐԻԿՅԱՆ

Ուղեղի կեղևից անջատված մաքրված միտոքոնդրիալ և նյարդային վերջույթների (սինապտոսոմալ) ֆրակցիաներում ծերացման ընթացքում գլուտամինաթթվի օքսիդացումը փոփոխության չի ենթարկվում: Ուղեղի կեղևի և ցողունի հոմոլոգենատներում տարված հետազոտությունները բացահայտեցին, որ նշված պրոցեսը ծերացման ընթացքում զգալիորեն թուլանում է ցողունում: Պրոցեսի հասակային թուլացումը կեղևի հոմոլոգենատներում պակաս է արտահայտված:

Բերված տվյալներից հետևում է, որ ուղեղի ֆիլոգենետիկորեն հնագույն մասը՝ ցողունը, ավելի զգայուն է հասակային փոփոխությունների հանդեպ, քան երիտասարդ մասը՝ կեղևը:

GLUTAMIC ACID OXIDATION AND ITS REGULATION
IN DIFFERENT REGIONS AND SUBCELLULAR PARTICLES
OF RAT BRAIN WITH AGING

E. G. ADUNTZ, J. A. PARONIAN, G. V. APRIKIAN

The results obtained show, that the intensity of glutamic acid oxidation in purified mitochondrial and synaptosomal fractions obtained from the rat cerebral cortex is not changed with aging. This process considerably decreases in the brain stem but not in the cerebral cortex. It is concluded, that the phylogenetically older part of the brain (stem) is more liable to change than the young one (cortex).

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Weinbach E., Garbus J. J. Biol. Chem., 234, 412, 1959.
2. Sanadi R. R., Barrows C. H., Crowder S. E. J. Gerontol., 21, 244, 1966.
3. Коломиец Е. Ф. Тр. Научн.-иссл. ин-та биологии ХГУ, 12, 185, 1947.
4. Mui C., De Kock P. C., Inkson R. H. E. Experientia, 15, 354. Basel, 1959.
5. Kibjer H. H., Sibsby H. D., Johnson H. D. J. Gerontol., 18, 235, 1963.

6. Фролькис В. В. Мат-лы симп. по основн. пробл. возр. физиол. и биохим., 37, Харьков, 1963.
7. Weiss A. K., Cossey R. J., Shau R. W. *The Gerontologist*, 6, 2, 13, 1966.
8. Парина Е. В., Сопоцинская Е. В. Уч. зап. ХГУ, 68 и Тр. Научн. иссл. ин-та биологии и биол. фак-та ХГУ, 24, 43, 1956.
9. Априкян Г. В., Шагинян В. А. Вопросы биохимии мозга, 5, 17, Ереван, 1969.
10. Бунятыян Г. Х., Априкян Г. В., Шагинян В. А., Паронян Ж. А. Вопросы биохимии мозга, 6, 53, Ереван, 1970.
11. Бунятыян Г. Х., Априкян Г. В., Мкртчян Г. А. Вопросы биохимии мозга, 6, 87, Ереван, 1970.
12. Gray E. A., Whittaker V. P. *J. Anat.* (London), 96, 79, 1962.
13. Bradford H. F. *J. Neurochem.*, 16, 675, 1969.
14. Bradford H. F., Bennet J. M., Thomas A. J. *J. Neurochem.*, 21, 495, 1973.
15. Априкян Г. В., Паронян Ж. А., Мкртчян Г. А., Адуни Э. Г., Мусаелян С. С. ДАН АрмССР, 62, 50, 1976.
16. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. *J. Biol. Chem.*, 193, 265, 1951.
17. Hess H. H., Lewin E. *J. Neurochem.*, 12, 205, 1965.
18. Потапенко Р. И. 9-й Междунар. конгр. геронт. Тезисы докл., 3, 375, 1972.
19. Фролькис В. В. Старение и биологические возможности организма, 150, М., 1975.
20. Brody H. J. *Comp. Neurol.*, 102, 511, 1955.
21. Andrew W. *Federation Proc.*, 15, 942, 1956.