

УДК 612.397.8—014.3:577.12:612.67

ВЛИЯНИЕ СТРЕССА НА СОСТАВ И ПЕРЕКИСНОЕ
ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В СИНАПТИЧЕСКИХ МЕМБРАНАХ
ГОЛОВНОГО МОЗГА ВЗРОСЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС

ПОТАПЕНКО Р. И., СЛБКО В. Е.

Институт геронтологии, Киев

В настоящее время широко обсуждается вопрос о роли ПОЛ мембран в генезе нарушений метаболизма и функций разных органов, возникающих при моделировании патологических, в том числе стрессовых, состояний. Подчеркиваются особенности протекания процесса ПОЛ в этих условиях в ткани головного мозга в связи с особой ролью мозга в стрессовых ситуациях [1, 2]. Однако возрастной аспект этого вопроса не исследован. Между тем, возрастные изменения липидного состава мембран [3, 4] и процесса перекисидации [5, 6] могут существенно влиять на выраженность повреждений мембранных структур, ведущих к нарушению метаболизма и функции клеток при стрессе в старости. Поэтому представлялось важным изучить и сопоставить состав липидов и уровень их перекисидации в синаптических мембранах (СМ) нейронов головного мозга интактных крыс разного возраста и крыс, подвергавшихся стрессовому воздействию.

В работе использовали 7-месячных (взрослые) и 25-месячных (старые) крыс-самцов породы *Wistar*. С учетом возраста они были разделены на 4 группы (2 контрольные и 2 подопытные) по 10 крыс в каждой. Использовали модель эмоционально-болевого стресса (ЭБС) [7]. Крысы подвергались стресс-воздействию в течение 10 мин ежедневно на протяжении 3 суток. Синаптосомы выделяли из 10%-ного гомогената коры мозга на 0,32 М растворе сахарозы, содержащем 0,01 М трис и 0,005 М ЭДТА (рН 7,4) [8]. СМ получали, подвергнув синаптосомы гипотоническому шоку путем инкубации в дистиллированной воде (0°, 30 мин). Белок определяли модифицированным методом Lowry и соавт. [9], используя в качестве стандарта БСА. В липидных экстрактах (хлороформ/метанол, 1:2) [10] определяли холестерин [11], спектр жирных кислот (после метилирования) [12] на газожидкостном хроматографе «Shimadzu GC-4A» (Япония), суммарные и разделенные с помощью двумерной ТСХ на силикагеле в системах хлороформ/метанол/7N аммиак (90:54:11) и

хлороформ/метанол/уксусная кислота/вода (90:40:12:9) индивидуальные фосфолипиды—по P₁ [11]. В гептан-изопропаноловом экстракте определяли диевые конъюгаты [13]. Активность Na⁺, K⁺-АТФазы измеряли, как описано ранее [14].

Установлено, что СМ мозга старых крыс содержат больше холестерина, им присущи более высокое молярное отношение холестерин/фосфолипиды и коэффициент насыщенности жирнокислотных остатков липидов (таблица). Перечисленные изменения, ведущие к

Таблица

Липидный состав синаптических мембран коры головного мозга взрослых и старых крыс, интактных и подвергавшихся эмоционально-белевому воздействию. (M ± m; n = 10).

Показатели	Возраст крыс			
	7 месяцев		15 месяцев	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Холестерин, мм л, мг (села)	260 ± 20	230 ± 30	260 ± 6*	390 ± 15**
Фосфолипиды, ммоль/мг белка	440 ± 20	470 ± 30	440 ± 30	490 ± 50
Холестерин/фосфолипиды	0,46 ± 0,03	0,51 ± 0,04	0,61 ± 0,04*	0,63 ± 0,07
Фосфолипидный состав (% P ₁):				
Фосфатидилхолин	45,3 ± 1,5	45,3 ± 2,1	41,6 ± 2,0	45,2 ± 2,2
Фосфатидилэтаноламин	37,6 ± 2,1	32,7 ± 2,0	37,7 ± 2,3	36,4 ± 2,4
Сфингомиелин	3,4 ± 0,3	5,2 ± 0,4**	4,0 ± 0,4	5,2 ± 0,5**
Фосфатидилсерин + фосфатидилинозит	10,8 ± 0,8	12,4 ± 0,9	13,4 ± 1,0*	7,8 ± 1,1**
Липиды сатидаглицерин	0,9 ± 0,1	0,7 ± 0,05	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,06
Лизофосфатидилинозит	0,5 ± 0,1	1,7 ± 0,2**	0,9 ± 0,1*	1,4 ± 0,2**
Фосфатидная кислота	1,4 ± 0,2	2,4 ± 0,2**	0,9 ± 0,2	2,3 ± 0,2**
Жирнокислотный состав (% С):				
14:0	0,50 ± 0,08	0,40 ± 0,08	0,30 ± 0,06	0,40 ± 0,03
16:0	28,1 ± 2,4	31,1 ± 1,3	30,9 ± 1,8	29,8 ± 1,5
17:0	0,40 ± 0,10	0,50 ± 0,08	0,40 ± 0,06	0,80 ± 0,10
18:0	26,3 ± 1,0	30,2 ± 0,3**	33,8 ± 1,5*	27,5 ± 0,9**
18:1	14,0 ± 1,6	19,7 ± 0,5**	18,2 ± 1,0*	19,4 ± 1,8
18:2	1,0 ± 0,2	0,60 ± 0,3**	0,60 ± 0,07*	0,70 ± 0,11
20:1 + 20:2	0,4 ± 0,08	0,30 ± 0,08	0,30 ± 0,05	0,40 ± 0,02
20:4 + 22:5	9,4 ± 1,3	7,9 ± 0,09	8,4 ± 0,8	8,6 ± 0,7
22:4	7,9 ± 1,1	3,4 ± 0,03**	3,1 ± 0,7*	3,9 ± 0,6
22:6	12,1 ± 1,8	6,0 ± 1,0**	4,1 ± 1,0*	8,6 ± 1,2**
Коэффициент насыщенности ЖК	1,24 ± 0,12	1,64 ± 0,09**	1,83 ± 0,22*	1,41 ± 0,11**

Примечание. Различия достоверны (p < 0,05): *—между взрослыми и старыми; **—между контрольными и подопытными крысами в каждой возрастной группе.

уплотнению СМ, возможно, в какой-то степени компенсируются увеличением концентрации мононенасыщенной кислоты (18:1) и лизофосфатидилхолина, которые должны способствовать уменьшению плотности упаковки ее компонентов.

ЭБС сопровождается активацией ПОЛ, на что указывает увеличение концентрации диеновых конъюгатов в СМ мозга взрослых (на 46%, с $1,03 \pm 0,07$ до $1,51 \pm 0,16$ нмоль/мг белка) и старых крыс (на 79%, с $0,75 \pm 0,07$ до $1,35 \pm 0,24$ нмоль/мг белка), изменением химического состава мембран. В СМ мозга подвергнутых стрессу взрослых крыс отношение холестерина/фосфолипиды по сравнению с интактными не изменяется, но растет уровень сфингомиелина, что в сочетании с увеличением насыщенности жирнокислотного спектра мембранных липидов будет способствовать изменению физических свойств СМ. Следствием этих сдвигов может быть изменение функционирования мембранных ферментов. Действительно, активность Na^+ , K^+ -АТФазы в СМ мозга взрослых крыс уменьшается по сравнению с контролем с $15,9 \pm 0,9$ до $11,9 \pm 0,7$ мкмоль P_i /мг белка. У старых крыс, подвергавшихся ЭБС, изменения в составе липидов СМ, наоборот, приводят к уменьшению степени насыщенности их жирнокислотного спектра в основном за счет снижения содержания стеариновой (18:0) кислоты и увеличения докозатетраеновой (22:4), а также к некоторому возрастанию уровней холестерина и сфингомиелина. Последние, как известно, способствуют увеличению вязкости мембраны. Активность Na^+ , K^+ -АТФазы в СМ мозга этих крыс также уменьшается по сравнению с интактными (с $14,2 \pm 1,1$ до $10,1 \pm 0,8$ мкмоль P_i /мг белка/ч). Стрессирование сопровождается ростом концентрации лизофосфатидилхолина и фосфатидной кислоты в СМ мозга крыс обеих возрастных групп, что может являться следствием усиления гидролиза фосфолипидов.

Таким образом, ЭБС сопровождается активацией ПОЛ СМ, более значительной у старых крыс, хотя уровень диеновых конъюгатов у опытных животных одинаков независимо от возраста. Изменения липидного состава СМ мозга, возникающие при стресс-реакции, носят как деструктивный, так и компенсаторный характер. Однако, если у взрослых животных перестройка СМ, происходящая под влиянием ЭБ-воздействия, должна в конечном итоге приводить к стабилизации и ослаблению процесса ПОЛ, то у старых крыс она может способствовать дальнейшей его активации вследствие увеличения количества полиеновых жирных кислот, являющихся основным субстратом ПОЛ, что, несомненно, будет усугублять повреждение синапсов. Однозначная интерпретация установленных фактов затруднительна, однако, если исходить из развиваемой Бурлаковой концепции [15] о регуляции липидного состава мембран посредством изменения активности перекисного окисления входящих в них липидов, можно предположить, что, либо в старости происходит нарушение этого регуляторного механизма, либо соответствующая перестройка СМ отсрочена во времени вследствие замедления метаболической адаптации.

COMPOSITION AND PEROXIDATION OF LIPIDS IN THE BRAIN SYNAPTIC MEMBRANES OF ADULT AND OLD RATS

POTAPENKO R. I., SABKO V. E.

Institute of Gerontology, Kiev

In 7- and 25-month-old male Wistar rats the emotional-pain stress was accompanied by the activation of lipid peroxidation in the synaptic membranes of the cerebral cortex, changes in lipid composition of the membranes, as well as by decrease of their Na^+ , K^+ -ATPase activity. In 7-month-old rats the stress reaction was characterized by the increase in saturation of fatty acid spectrum of the membrane lipids, while in 25-month-old rats the above saturation decreased. In animals of both age groups the stress modified the composition of phospholipids, in 25-month-old rats the rise of cholesterol level was observed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Мерсон Ф. Э., Архипенко Ю. В., Диденко В. В. Бюл. экперим. биол., т. 106, № 11, с. 542—544, 1988.
2. Никушкин П. В. Нейрохимия, т. 8, № 1, с. 124—145, 1989.
3. Фроликс В. В. Физiol. журн., т. 30, № 5, с. 559—566, 1984.
4. Потапенко Р. И., Сабко В. Е., Босацкая Л. П. Укр. биохим. журн., т. 62, № 5, с. 77—82, 1990.
5. Слагта О. Р. Чинский. Вopr. уз. Res. (совитин.), т. 78, p. 459—475, 1977.
6. Адуц А. Е., Паронян Ж. А., Априкян Г. В., Ахвердян Э. С. Нейрохимия, т. 4, № 4, с. 423—426, 1985.
7. Водяев Ф. П., Воробьева Т. М. — В кн.: Модели и механизмы эмоциональных стрессов, Киев, 1983.
8. Hajos F. Brain Res., v. 93, p. 455—459, 1975.
9. Markwell M. A. K., Haas S. M., Bieber L. L., Tolbert N. Anal. Biochem., v. 87, p. 206—210, 1978.
10. Кейтс М. — В кн.: Техника липидологии, М., Мир, 1975.
11. Виркемп Дж., Броукхьюз Р. — В кн.: Биохимическое исследование мембран (под ред. Э. Мэдди), М., Мир, 1979.
12. Методы биохимических исследований (под ред. М. И. Прохоровой), Л., Изд-во ЛГУ, 1982.
13. Костюк В. А., Потапович А. И., Лунец Е. Ф. Вopr. мед. химии, т. 30, № 4, с. 125—127, 1986.
14. Потапенко Р. И. Нейрохимия, т. 5, № 1, с. 57—60, 1986.
15. Бурлакова Е. Б. Кардиология, т. 20, № 8, с. 48—52, 1980.

Поступила 28. III. 1991