



## СОДЕРЖАНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ В СИНАПТОСОМАХ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ НАРУШЕНИИ СНА

ТАРАНОВА Н. П., НИЛОВА Н. С.

Институт физиологии им. И. П. Павлова АН СССР, Ленинград

Согласно современным представлениям, сон является активным состоянием [1, 2], особенно необходимым для восстановления тех минорных альтерационных изменений биологических мембран (в частности синаптических), которые развиваются в процессе бодрствования [1]. В связи с этим представляет интерес исследование процессов свободнорадикального окисления мембранных липидов при сне и его нарушениях, поскольку в ходе развития ПОЛ существенно меняются свойства липидного компонента мембраны [3]. Следствием изменения уровня ПОЛ является функционально-структурная перестройка мембраны, так как состояние свободнорадикального окисления мембранных липидов определяет гидрофобно-гидрофильный баланс мембраны, ее проницаемость и активность мембраносвязанных ферментов. Регулятором ПОЛ в клетке служит система антиоксидантной защиты, включающая систему антиоксидантных ферментов и группу низкомолекулярных антиоксидантов (АО).

Ранее было показано, что нарушение сна—лишение его парадоксальной фазы (ПФС) в течение 24 ч—приводит к снижению содержания продуктов ПОЛ в синаптосомах крыс при росте антиоксидантной активности (АОА), выражающейся в увеличении активности супероксиддисмутазы [4]—одного из наиболее активных антиоксидантных ферментов. Для полноты характеристики АОА синаптосом при нарушении сна казалось интересным исследовать уровень низкомолекулярных АО в этих условиях.

В живых клетках содержатся как водорастворимые АО (аскорбиновая кислота, глутатион и др.), так и жирорастворимые АО (токоферол, убихинон, филлохинон). Несмотря на то, что все АО прямого действия регулируют скорость ПОЛ на стадии инициации и обрыва цепей [3], особенное значение для функционирования мембран имеют жирораство-

римые АО и, в первую очередь, токоферол. Кроме непосредственного влияния на скорость ПОЛ, токоферол обеспечивает структурно-функциональную стабильность биологических мембран [5], ограничивая молекулярную подвижность липидного слоя мембраны [6] и образуя комплексы с остатками жирных кислот мембранных липидов [7].

Целью работы было исследование содержания водорастворимых и жирорастворимых АО синапсом и гомогената коры больших полушарий головного мозга крыс при лишении животных ПФС в течение 24 ч.

Опыты ставили на белых крысах линии *Wistar* массой 160—180 г. Лишения ПФС достигали помещением животных на кубики, окруженные водой [8]. Фракцию синапсом коры больших полушарий головного мозга крыс получали по методу Hajos [9], содержание АО определяли по методу Glavind [10]. Принцип метода состоит в том, что взаимодействие свободного радикала  $\alpha$ ,  $\alpha$ -дифенил- $\beta$ -пикрилгидразида (ДФПГ) с антиоксидантами сопровождается уменьшением поглощения при 517 нм вследствие превращения свободного радикала в дифенилпикрилгидразин. Уменьшение оптической плотности при 517 нм пропорционально концентрации АО. Экстракцию жирорастворимых АО из нервной ткани производили хлороформом, водорастворимых—водой. Калибровочную кривую для жирорастворимых АО строили по  $\alpha$ -токоферолу, для водорастворимых—по аскорбиновой кислоте. Содержание белка определяли по методу Miller [11], общих липидов—по методу Тарановой, Говоровой [12].

Исследование АО проводили в гомогенате и синапсом коры больших полушарий головного мозга крыс. Метод, примененный в настоящем исследовании [10], позволяет определить и сопоставить содержание как водорастворимых, так и жирорастворимых АО. Для сравнения их количество в обоих случаях выражали в мкэкв./мг белка.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что содержание водорастворимых АО более чем на порядок выше, чем жирорастворимых как в гомогенате, так и в синапсом (таблица). Абсолютное содержание жирорастворимых АО в гомогенате и в синапсом близко по величине, однако во фракции синапсом доля жирорастворимых АО составляет 8% всей суммы АО, а в гомогенате эта величина достигает всего лишь 2%. Это хорошо согласуется с приведенными выше данными об особой роли жирорастворимых АО в функционировании мембран.

Данные литературы по содержанию различных представителей водорастворимых АО весьма фрагментарны. Использованный нами метод дает более полное представление об общем фонде водорастворимых АО в исследуемой ткани. Что касается жирорастворимых АО, то их качественный состав более ограничен и представлен преимущественно  $\alpha$ -токоферолом и убихиноном. Однако если перевести в сопоставимые единицы наши результаты и результаты определения  $\alpha$ -токоферола флуориметрически [13], то окажется, что примененный нами метод [10] дает более высокие цифры содержания жирорастворимых АО в нервной ткани. Аналогичные результаты получены другими авторами [14], также использовавшими метод определения содержания жирорастворимых АО [10].

который менее специфичен, чем флуорометрические методы определения  $\alpha$ -токоферола, и вследствие этого может дать более высокие цифры. Сопоставительный анализ результатов, полученных разными авторами в настоящее время весьма затруднителен из-за отсутствия унификации условий экстракции и определения жирорастворимых АО.

Таблица

Содержание антиоксидантов в коре больших полушарий головного мозга крыс при лишении парадоксальной фазы сна в течение 24 ч

Определяемые компоненты	Гомогенат		Синапсомы	
	контроль	лишение ПФС 24 ч	контроль	лишение ПФС 24 ч
Водорастворимые антиоксиданты (мкэкв./мг белка)	0,0535±0,0020 (12)	0,0547±0,0017 (12)	0,0132±0,0008 (10)	0,0127±0,0008 (10)
Жирорастворимые антиоксиданты (мкэкв./мг белка)	0,0011±0,0001 (12)	0,0090±0,0004 (12)	0,0012±0,0001 (10)	0,0015*±0,0001 (10)
Липид/белок (общие липиды мг/мг белка)	0,270±0,006 (12)	0,27±0,01 (12)	0,290±0,006 (10)	0,290±0,007 (10)
Жирорастворимые антиоксиданты (мкэкв./мг липидов)	0,0040±0,0002 (12)	0,0036±0,0001 (12)	0,0042±0,0003 (10)	0,0053*±0,0003 (10)

Примечание. \* статистически достоверное отклонение ( $p < 0,05$ ); в скобках указано число опытов.

Из таблицы следует, что лишение ПФС в течение 24 ч не вызывало изменения содержания АО в гомогенате. Принимая во внимание, что ранее нами было показано ингибирование начальных этапов ПОЛ, в гомогенате коры больших полушарий головного мозга крыс при нарушении сна [4], можно предположить, что в ткани коры преобладающим механизмом ингибирования ПОЛ при лишении ПФС является активация ферментов антиоксидантной защиты, а не снижение количества низкомолекулярных АО. В синапсомы при лишении крыс ПФС содержание водорастворимых АО не изменяется, но количество жирорастворимых АО возрастает на 25%. Как упоминалось выше, для удобства сопоставления данных о содержании водо- и жирорастворимых АО результаты выражали в мкэкв./мг белка. Однако более правильным является выражение концентрации жирорастворимых АО в расчете на 1 мг липидов. Определение количества общих липидов показало, что нарушение сна не влияет на соотношение липид/белок (таблица). Перерасчет содержания жирорастворимых АО на 1 мг липидов подтвердил, что лишение крыс ПФС имеет следствием увеличение их количества в среднем на 26%.

Таким образом, настоящие результаты показывают, что эффект лишения ПФС проявляется специфически только в увеличении количества жирорастворимых АО, непосредственно связанных с синаптическими мем-

бранами. Низкомолекулярные АО являются составной частью системы антиоксидантной защиты клетки. Увеличение содержания АО в синаптосомах при лишении ПФС можно рассматривать как один из механизмов, приводящих к выявленному ранее снижению уровня ПОЛ синапсом при нарушении сна [4]. Возможно, что, помимо своей роли ловушки свободных радикалов,  $\alpha$ -токоферол может иметь дополнительное значение как стабилизатор синаптических мембран [7]. Было показано, например, что  $\alpha$ -токоферол стабилизирует трансмембранный потенциал синапсом при повреждающем действии фосфолипаз А<sub>2</sub> и С [15]. Структурирующее действие  $\alpha$ -токоферола может быть связано с взаимодействием метильных групп его фитильной цепи с *цис*-ненасыщенными двойными связями жирнокислотных остатков липидного бислоя, сопровождающимся изменением микровязкости мембранных липидов. Если увеличение содержания жирорастворимых АО синапсом при лишении ПФС также способствует стабилизации синаптических мембран, то это можно рассматривать как компенсаторный механизм приспособления к стрессу, вызванному нарушением сна.

## THE LEVEL OF ANTIOXIDANTS IN RAT BRAIN SYNAPTOSOMES UNDER SLEEP DEPRIVATION

TARANOVA N. P., NILOVA N. S.

Pavlov Institute of Physiology, USSR Academy of Sciences, Leningrad

REM-sleep deprivation of animals for 24 hours resulted in an increased level of lipid-soluble antioxidants in synaptosomes prepared from the rat cerebral cortex; in contrast the level of water-soluble antioxidants showed no changes. The level of antioxidants did not change in the homogenate of rat brain cortex after sleep deprivation.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Демин Н. Н., Козан А. Б., Моисеева Н. И. Нейрофизиология и нейрохимия сна. Л., Наука, 1978.
2. Giuditta A. — In: Biochemical correlation of brain structure and function (ed A. N. Davison), p. 293—337, L.—N. Y.—San Francisco, Academic Press, 1977.
3. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., Наука, 1972.
4. Таранова Н. П., Нилова Н. С. Физиол. журн. СССР, т. 72, с. 1065—1068, 1986.
5. Tappel A. L. Ann. N. Y. Acad. Sci., v. 203, p. 12—14, 1972.
6. Храпова Н. Г. — В кн.: Биохимия липидов и их роль в обмене веществ (под ред. С. Е. Северина), с. 147—155, М., Наука, 1981.
7. Ерин А. Н., Спирин М. М., Табидзе Л. В., Казан В. Е. Биохимия, т. 48, с. 1855—1861, 1983.
8. Jouvet D., Vimont P., Delorme F., Jouvet M. C. r. Soc. biol., v. 158, p. 756—759, 1964.

9. Hajos F. Brain Res., v. 93, p. 485—489, 1975.
10. Glavind J. Acta chem. scand., v. 17, p. 1635—1640, 1963.
11. Miller G. L. Anal. chem., v. 31, p. 964, 1959.
12. Таранова Н. П., Говорова Л. Б. Вогр. мед. химии. т. 33, вып. 2, с. 132—136, 1987.
13. Тупеев И. Р., Бордюков М. М., Крыжановский Г. Н., Никушкин Е. В. Бюл. эксперим. биол. и мед., т. 100, с. 538—541, 1985.
14. Плотников М. Б., Лобанов А. А., Иванова В. В. Бюл. эксперим. биол. и мед., т. 105, с. 677—679, 1988.
15. Erin A. N., Gorbunov N. N., Brusovanic V. L., Tyurin V., Prilipko L. L. Brain Res., v. 398, p. 85—90, 1986.

Поступила 6. IV 1988

---

*Белки нейронов и глии. Структура, функция и клиническое применение*, 398 с., 1988.

*Neuronal and Glial Proteins. Structure, Function and Clinical Application* (ed. P. J. Marangos, R. M. Coen and I. C. Campbell) Academic Press, San Diego, CA, USA, 398 p., 1988.

Последние достижения в области очистки белков и молекулярной биологии позволили приступить к изучению белков мозга в новом, информационном плане. В рассматриваемой книге собраны обзоры по всем охарактеризованным к настоящему времени белкам нейронов и глии, включая антиген Thy-1, факторы роста, PGP-9,5 и связанные с миелином гликопротеины. Возможности клинического применения белков рассматриваются преимущественно в таких областях, как маркеры опухолей, дифференциация и маркера клеток определенных типов. Книга заинтересует нейробиологов и молекулярных биологов, изучающих молекулярные аспекты деятельности мозга и нервной системы, а также исследователей, занимающихся потенциальным клиническим использованием белков мозга. Основными разделами книги являются: «Методы идентификации и модификации белков мозга», «Растворимые белки нервной системы».