

6. Кулаков В. И., Зак И. Р., Куликова Н. Н. Послеродовые инфекционные заболевания. М., 1984.
7. Cohen S. D., Israel J., Spiess-Mehr B. et al. J. Immunology, 1981, 126, 4, 1415.
8. Torchilin V. P. In: Targeting Drugs. Ed. Yoldberg E. P., 1983, 2, 127.
9. Werb Z., Aggeler J. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1978, 75, 1839.

УДК 612.82.015:615.779.94

Ж. А. ПАРОНЫН, Э. Г. АДУНЦ, Г. В. АПРИКЯН, Г. А. МКРТЧЯН

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОКИСЛЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ И ГЛИКОЛИЗА В СУБКЛЕТОЧНЫХ ЧАСТИЦАХ МОЗГА

Установлено, что в синапсомной фракции (СФ) в процессе старения заметно снижается окисление глюкозы как по поглощению кислорода, так и по образованию CO_2 . У старых животных снижается также интенсивность гликолиза в синапсомных, особенно в легкой синапсомной, фракциях. В надосадочной фракции возрастные изменения гликолиза незаметны.

Проведенное исследование позволяет заключить, что энергообеспечение СФ за счет глюкозы при старении снижается.

Углеводы являются основным источником энергии в организме животных. Около 10—15% утилизированной глюкозы превращается в молочную кислоту (МК) [1]. Гликолиз теснейшим образом связан с созреванием и старением. Интенсивность гликолиза достигает максимума в возрасте 2—4 месяцев, после чего начинается постепенное, но неуклонное уменьшение [3, 21]. В коре мозга образование МК за счет эндогенных источников незначительное. В присутствии глюкозы в срезах коры продукция МК увеличивается в пять раз [24]—вдвое больше, чем в СФ [8]. Образование МК в срезах и СФ увеличивается также в присутствии ряда аминокислот [10, 24], аммиака, ионов K^+ , при исключении Ca^{2+} из среды [9], электрическом раздражении [7].

Скорость окисления глюкозы и образования CO_2 также зависит от функционального состояния мозга, возраста животных и ряда других причин. Поглощение кислорода и образование CO_2 в присутствии глюкозы, усиливаясь [23], достигают максимума к трехмесячному возрасту, затем при старении постепенно снижаются [20]. Вышеприведенные данные свидетельствуют, что при старении снижается продукция энергии за счет глюкозы. Однако следует отметить, что имеющиеся работы в основном проводились на гомогенатах и срезах. Весьма мало изучены особенности энергообразования в синапсомных фракциях мозга при старении. Исходя из этого целью нашего исследования было выяснение изменений интенсивности окисления и гликолитического превращения глюкозы в некоторых субклеточных частицах мозга в процессе старения.

Материал и методы

Опыты поставлены на белых крысах двух возрастных групп: половозрелых (5—6-месячные) и старых (24-месячные). Исследование проводили на синапсомных («легких» и «тяжелых») и надосадочной фракциях мозга.

Животных обезглавливали, извлекали большие полушария мозга и помещали в 0,154 М раствор КСl. Мозговую ткань очищали от оболочек и кровеносных сосудов и готовили 10% гомогенат на 0,32 М растворе сахарозы, содержащем 1 ммоль ЭДТА, рН 7,4. «Легкую» и «тяжелую» синаптосомные фракции (ЛСФ и ТСФ) получали из коры больших полушарий мозга методом Hajos [12]. Все процедуры проводили при температуре, близкой к 0°. На инкубацию брали 1 мл суспензии фракции, соответствующей в случае ЛСФ—2,63—3,63 мг, ТСФ—1,25—1,8 мг и надосадочной фракции—2,15—3,58 мг белка, приготовленной на К-фосфатном буфере, рН 7,4, со следующими конечными концентрациями: K_2HPO_4 — K_2HPO_4 —16; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ —5; NaCl —74; маннит—160 ммоль. Объем инкубационной смеси буфером доводили до 2 мл.

В СФ образование $^{14}\text{CO}_2$ из $\text{U-}^{14}\text{C}$ -глюкозы определяли в среде поглощения, содержащей: Na-фосфатный буфер 0,1 М, рН 7,4—4,24 мл; NaCl 1,0 М—4,8 мл; KCl 1,0 М—0,2 мл; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,1 М—1 мл; глюкоза 0,4 М—2,0 мл; H_2C —27,8 мл. Количество CO_2 определяли в сцинтилляционном счетчике SL (Франция).

Пробы инкубировали 40 мин при 37°. Дыхание определяли манометрическим методом Варбурга, МК—по Barker, Sammerson [5], белок — по Lowry [16]. В качестве субстрата окисления использована немеченая глюкоза в конечной концентрации 10 ммоль (фирма Sigma, США), и радиоактивная глюкоза ($\text{U-}^{14}\text{C}$ -глюкоза 180 мCi/mmol; Amersham, Великобритания).

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования (табл. 1) показали, что в СФ головного мозга животных обеих возрастных групп глюкоза интенсивно окисляется. Однако при старении окисление глюкозы значительно снижается (28,9%).

Таблица 1

Интенсивность окисления глюкозы (мкмоль O_2 /100 мг белка/30 мин) в СФ головного мозга белых крыс при старении

Возраст животных	Контроль	Глюкоза	
		количество	разница
Половозрелые	36,77±1,21 (12)	65,89±1,37 (13)	29,12
Старые	30,75±0,86 (11) P<0,01	51,45±1,93 (15) P<0,01	20,7

Примечание. В табл. 1, 2, 3 в скобках дано число животных.

В СФ снижение интенсивности окисления глюкозы в старости сопровождается уменьшением образования $^{14}\text{CO}_2$ из $\text{U-}^{14}\text{C}$ -глюкозы: у половозрелых животных количество образовавшегося $^{14}\text{CO}_2$ при 37° составляет 37953 распада в минуту, у старых—всегда лишь 22380. Таким образом, последний процесс с возрастом снижается на 41,2% (табл. 2).

Таблица 2

Продукция $^{14}\text{CO}_2$ (дпт/100 μ белка/20 мин) из ^{14}C -глюкозы в СФ
головного мозга белых крыс при старении

Возраст животных	Инкубация, 20 мин, 0°	Инкубация, 20 мин, 37°	Разница
Половозрелые	453,5 \pm 22,57 (10)	37953 \pm 3517 (10)	37499,5
Старые	328,5 \pm 18,4 (16) P<0,025	22380 \pm 2300 (10) P<0,05	22051,5

Таблица 3

Образование молочной кислоты (мкмоль/100 мг белка/40 мин)
во фракциях мозга крыс при старении

Возраст животных	До инкубации		После инкубации	
	контроль	контроль	глюкоза+АТФ	
			количество	разн.
Легкие синапсомы				
Половозрелые	92,0 \pm 4,0 (10)	77,0 \pm 4,0 (10)	172,0 \pm 11,0 (10)	95,0
Старые	77,5 \pm 3,8 (10) P<0,01	80,0 \pm 3,7 (12) P>0,05	138,0 \pm 2,5 (13) P<0,01	58,0
Тяжелые синапсомы				
Половозрелые	99,0 \pm 9,0 (10)	97,0 \pm 10,0 (10)	194,0 \pm 15,0 (10)	97,0
Старые	131,0 \pm 6,0 (10) P<0,01	126,0 \pm 10,6 (13) P>0,05	205,3 \pm 11,0 (12) P>0,5	79,3
Надосадоочная фракция				
Половозрелые	44,33 \pm 0,87 (12)	46,10 \pm 1,37 (11)	81,94 \pm 3,13 (20)	35,84
Старые	43,23 \pm 0,95 (16) P>0,4	43,29 \pm 1,32 (13) P>0,1	75,33 \pm 1,03 (21) P>0,05	32,04

Для более целостного представления об эффективности глюкозы как энергетического субстрата мозга при старении нами изучен также гликолиз. Учитывая, что гликолитическая активность мозга в основном распределена между его легкими фракциями: надосадоочной и СФ [19], и лактатдегидрогеназа (ЛДГ) этих фракций идентична [13], а в митохондриях локализовано всего 0,05% общей активности гомогената [19], возрастные изменения интенсивности гликолиза нами изучены в синапсомных (ЛСФ и ТСФ) и надосадоочной фракциях. Изучение образования МК в указанных фракциях выявило ряд особенностей для каждой из них: В ЛСФ уровень МК при старении достоверно снижается,

одновременно значительно (на 38, 95%) ослабляется интенсивность ее образования. Количество МК, образовавшейся в присутствии глюкозы и АТФ, у молодых составляет 172, у старых—138 мкмоль ($p < 0,01$). Примечательно, что в ТСФ к старости содержание МК заметно повышается, а ее образование—снижается. По сравнению с ЛСФ в ТСФ возрастное ослабление образования МК значительно меньше—на 18,24% (табл. 3).

В растворимой фракции мозга (табл. 3) в присутствии глюкозы образуется значительное количество МК: прирост МК у половозрелых и старых животных составляет 35,84 и 32,04 мкмоль соответственно. Отличительной особенностью надосадочной фракции по сравнению с ЛСФ и ТСФ является то, что в процессе старения интенсивность гликолиза в ней существенно не меняется ($p > 0,05$). Во всех изученных нами фракциях у животных обеих возрастных групп не улавливается эндогенное образование молочной кислоты (табл. 3). Полученные данные подтверждают установившееся в литературе мнение о том, что мозг не в состоянии долго функционировать за счет собственных ресурсов—запасы глюкозы (и других субстратов) в нем невелики. Поэтому для его нормального функционирования необходим постоянный приток субстратов окисления из крови [11]. В старости снижается продукция энергии по основным путям ее образования, сопровождающаяся снижением образования макроэргических фосфатов [3], полумакроэргов [1]. Активность гексокиназы, ключевого фермента гликолиза, вслед за снижением инсулиновой обеспеченности организма, в старости снижается [4], результатом чего является и уменьшение окисления глюкозы и гликолиза (табл. 1—3). Причиной уменьшения интенсивности гликолиза в процессе старения может быть снижение ЛДГ активности мозга [22]. При старении различная степень изменений гликолиза в ЛСФ и ТСФ, вероятно, объясняется неодинаковым изоферментным составом их ЛДГ [19], а также более интенсивным поглощением кислорода ТСФ [18]. Возрастное снижение интенсивности окисления и гликолитического превращения глюкозы в СФ можно также частично объяснить уменьшением количества и проницаемости глюкозы, а также качественными изменениями СФ [2, 14, 15].

Полученные результаты позволяют заключить, что энергообеспечение головного мозга и, в частности, СФ за счет глюкозы при старении значительно снижается.

Институт биохимии
АН Арм ССР

Поступила 26/IV 1986 г.

ժ. Ա. ՊԱՐՈՆՅԱՆ, Է. Գ. ԱՂՈՒՆՅ, Գ. Վ. ԱՊՐԻԿՅԱՆ, Գ. Հ. ՄԿՐՏՅԱՆ

ԳԼՅՈՒԿՈՋԻ ՕՔՍԻԴԱՑՄԱՆ ԵՎ ԳԼԻԿՈԼԻԶԻ ՀԱՍՏԱԿԱՅԻՆ ԱՌՆԱԶՆԱՀԱՏՎՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԱՌՆԵՑԻ ՈՒՂԵՂԻ ԵՆԹԱԲՋՋԱՅԻՆ ՏԱՐՐԵՐՈՒՄ

Սեռահասուն և ծեր սպիտակ առնետների ուղեղի տարբեր պատրաստուկներում ուսումնասիրվել է գլյուկոզի օքսիդացումն ու գլիկոլիտիկ փոխարկումը:

Ցույց է տրված, որ նյարդային վերջույթների ֆրակցիայում ծերացման ընթացքում պակասում է գլյուկոզի օքսիդացումն (ըստ թթվածնի կլանման և CO_2 -ի առաջացման) և գլիկոլիզի արագությունը, հատկապես թեթև ֆրակցիայում: Վերնստվածքային ֆրակցիայում գլիկոլիզի հասակային փոփոխությունները ակնհայտ չեն: Բերված տվյալներից հետևում է, որ ծեր կենդանիների ուղեղի նյարդային վերջույթների ֆրակցիայում պակասում է էներգիայի առաջացումը գլյուկոզից:

J. A. PARONIAN, E. G. ADUNTS, G. V. ARIKIAN, G. A. MKRTCHIAN
 GLUCOSE OXIDATION AND GLYCOLYSIS IN RAT BRAIN SUBCELLULAR PARTICLES IN AGEING

Glucose oxidation measured by oxygen consumption and CO_2 production in synaptosomal fraction of the cerebral cortex decreased during ageing.

The intensity of glycolysis in old animals decreased especially in light synaptosomal fraction. In the supernatant fraction of the brain the changes in the glycolysis rate are negligible.

It is concluded that glucose oxidation as a source of energy supply of the synaptosomes is decreased in old animals.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Априкян Г. В., Паронян Ж. А., Мкртчян Г. А. Нейрохимия, 1982, 1, 3, с. 243.
2. Богацкая Л. Н., Потапенко Р. И. В сб.: Геронтология и гернатрия. Киев, 1975, с. 148.
3. Потапенко Р. И. 9-й Межд. конгр. геронт. Тезисы докл. М., 1972, 3, с. 375.
4. Фролькис В. В., Богацкая Л. Н., Коркушко О. В. В кн.: Инсулиновая обеспеченность организма в старости. Киев, 1977, с. 5.
5. Barker J. B., Sammerson W. N. J. Biol. Chem., 1941, 138, 525.
6. Bradford H. F. J. Neurochem., 1969, 16, 675.
7. Bradford H. F. Brain Res., 1970, 19, 239.
8. Bradford H. F., Thomas A. J. J. Neurochem., 1969, 16, 1495.
9. Bradford H. F., Bennett G. W., Thomas A. J. J. Neurochem., 1973, 21, 3, 495.
10. Cox D. W. G., Osborne R. H., Watkins J. C. J. Neurochem., 1977, 29, 6, 1127.
11. Gibbs E. L., Lennox W. G. Nins L. F., Gibbs F. A. J. Biol. Chem., 1942, 144, 2, 325.
12. Hajos F. Brain. Res., 1975, 93, 3, 485.
13. Johnson M. K., Whittaker V. P. Biochem. J., 1963, 88, 3, 404.
14. Klein A. W. Mech. age develop., 1983, 21, 3-4, 245.
15. Le Poncin-Laffitte M., Rapin S. R. Gerontology, 1980, 26, 265.
16. Lowry O. N., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 1951, 193, 1, 265.
17. Manthorpe C. M., Nettleton Jr. D. O., Wilson J. E. J. Neurochem., 1976, 27, 6, 1547.
18. Osborne R. H., Duce T. E., Keen P. J. Neurochem., 1976, 27, 6, 1483.
19. Packman P. M., Biostrand C., Hamberger A. J. Neurochem., 1971, 18, 3, 479.
20. Patel M. S. J. Geront., 1977, 32, 6, 613.
21. Reiner J. M. J. Geront., 1947, 2, 2, 315.
22. Singh S. N., Kanungo M. S. J. Biol. Chem., 1968, 243, 17, 4526.
23. Swaiman K. F., Lemieux B. J. Neurochem., 1969, 16, 3, 385.
24. Woodman R. J., McIlwain H. Biochem. J., 1961, 81, 1, 83.