

О. Ю. ГАРМАТИНА<sup>1</sup>, В. И. НОСАРЬ<sup>1</sup>, Е. Э. КОЛЕСНИКОВА<sup>1</sup>,  
Т. Ю. ЛАПИКОВА-БРЫГИНСКАЯ<sup>1</sup>, Л. В. БРАТУСЬ<sup>1</sup>, А. Г. ПОРТНИЧЕНКО<sup>1</sup>

## ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ ТКАНЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОККЛЮЗИИ ОБЩЕЙ СОННОЙ АРТЕРИИ: РОЛЬ ЛИЗИЛОКСИДАЗЫ

Надійшла 12.02.16

Стенозы и окклюзии общей сонной артерии (ОСА) являются одной из основных причин цереброваскулярных патологий, поскольку они приводят к гипоперфузии головного мозга. Нарушения экспрессии лизилоксидазы (ЛО) лежат в основе развития многих патологических процессов, включая сосудистые и церебральные патологии; изменения активности этого фермента, вероятно, существенно влияют на функции митохондрий (МХ). Мы изучали роль ЛО в регуляции энергетического метаболизма в головном мозгу крыс в условиях экспериментальной унилатеральной хронической окклюзии ОСА (ХО ОСА). Исследования проводили на крысах линии Вистар, которым накладывали лигатуру на левую ОСА. Животные одной из групп с ХО ОСА потребляли 0.02 %-ный раствор блокатора ЛО β-аминопропионитрила (BAPN) в питьевой воде на протяжении восьми недель. После курса таких введений оценивали характеристики энергетического метаболизма МХ тканей полушарий головного мозга (левого – ЛП и правого – ПП) с использованием полярографии. ХО ОСА сопровождалась нарушениями тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования в МХ; эти изменения были более выражены в ЛП ( $P < 0.05$ ), но и в ПП они оказались достаточно заметными. Были получены указания на наличие межполушарных различий функционирования комплекса I МХ у здоровых контрольных животных (с большими значениями в ЛП). Введения BAPN способствовали частичному восстановлению функций МХ, что проявлялось в некотором ослаблении эффектов окклюзии ОСА. Таким образом, в условиях ХО ОСА происходит ухудшение энергетического метаболизма МХ в обоих полушариях. Изменения активности ЛО являются одним из факторов, которые ответственны за нарушения показателей функционирования МХ, связанные с гипоперфузией тканей мозга.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** лизилоксидаза (ЛО), блокатор ЛО BAPN, головной мозг, гипоперфузия, митохондрии (МХ), энергетический метаболизм, полярография.

### ВВЕДЕНИЕ

Общеизвестно, что патологические изменения церебральных сосудов увеличивают риск развития инсульта. Стенозы и окклюзии брахио-цефальных артерий обуславливают гипоперфузию головного мозга той или иной степени, что может привести к инсульту [1]. Хроническая гипоперфузия мозга, естественно, характеризуется замедлением мозгового кровотока и снижением содержания кислоро-

да и глюкозы в церебральной крови. Это, наряду с другими патофизиологическими изменениями, приводит к повреждению и гибели нейронов [2, 3].

Функциональное состояние митохондриального (МХ-) аппарата тканей головного мозга и активность нейронов ЦНС тесно связаны [4]. Потребность нервных клеток в энергетическом ресурсе – АТФ – обеспечивается более чем на 90 % за счет окислительного фосфорилирования в МХ с использованием глюкозы и кислорода. Достаточное количество энергии, генерируемой МХ, имеет важнейшее значение для поддержания в норме основных клеточных функций [5, 6]. Нарушение поступления в клетку глюкозы и кислорода приводит к существенным нарушениям функций МХ [7]; такие

<sup>1</sup> Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, Киев (Украина).

Эл. почта: harmatina@ukr.net (О. Ю. Гарматина).

нарушения играют роль одного из основных патологических факторов при острых и хронических заболеваниях ЦНС [8].

Фермент лизилоксидаза (ЛО) катализирует сшивку молекул коллагена за счет окисления первичных аминов. Этот процесс имеет важнейшее значение для стабилизации фибрилл коллагена, а также волокон зрелого эластина, что обеспечивает нормальные функциональные характеристики соединительной ткани, ряд процессов эмбрионального развития и ремоделирование тканей взрослого организма [9]. Важно отметить, что в ходе вышеупомянутых каталитических реакций в качестве побочных продуктов образуются в заметных количествах такие активные вещества, как пероксид водорода и аммиак. Кроме того, ЛО регулирует и другие внутриклеточные функции; в частности, она задействована в регуляцию клеточной дифференциации, подвижности/миграции клеток и транскрипции некоторых генов. Как показано, каталитическая активность ЛО специфически и необратимо ингибируется  $\beta$ -аминопропионитрилом (BAPN) [10]. Известно, что экспрессия ЛО регулируется факторами, индуцируемыми гипоксией (hypoxic-inducible factors – HIFs) [11]. Оказалось, что ЛО действует как регулятор прогрессивного развития опухолей, индуцированного гипоксией. Это реализуется через HIF-1-зависимый механизм при раке молочной железы, предстательной железы, почечноклеточной карциномы, при ряде опухолей головы, шеи и головного мозга [12, 13]. Одновременно была показана существенная роль ЛО в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, в частности атеросклеротических изменений сосудов и формирования интракраниальных аневризм [14, 15]. Имеются ряд данных об увеличении активности ЛО при оксидативном стрессе [16]. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* было установлено, что активность этого фермента влияет на процессы ангиогенеза, воздействуя на степень экспрессии фактора роста сосудистого эндотелия (vascular endothelial growth factor – VEGF) [17]. Следует, однако, признать, что степень вовлечения ЛО в ряд процессов цереброваскулярной патологии до настоящего времени выяснена недостаточно. Выглядит весьма вероятным то, что изменения активности ЛО способны вызывать значительные нарушения нормального функционирования МХ при гипоперфузии головного мозга, в частности в условиях хронической окклюзии (ХО) общей сонной артерии (ОСА).

Мы старались выяснить влияния изменений активности ЛО на характеристики энергетического метаболизма МХ в тканях полушарий головного мозга крыс в условиях моделирования односторонней ХО ОСА.

## МЕТОДИКА

Эксперименты были проведены на белых крысах линии Вистар (масса тела 250–300 г). Животные находились в условиях вивария Института физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины при стандартных рационе и световом режиме (12/12 ч).

Были сформированы три экспериментальных группы: 1 – контрольные (интактные) крысы ( $n = 6$ ), 2 – животные, у которых моделировали ХО ОСА ( $n = 6$ ), и 3 – животные, которым на фоне ХО ОСА производили курсовое введение *per os* 0.02 %-ного водного раствора селективного блокатора ЛО BAPN ( $n = 6$ ). При моделировании ХО ОСА крысам под кетаминным наркозом (1 мл/300 г) накладывали лигатуру на левую ОСА на уровне средней трети сосуда, после чего рану ушивали.

Через восемь недель после наложения лигатуры у крыс изучали особенности энергетического обмена в МХ тканей обоих полушарий (левого – ЛП и правого – ПП). После декапитации животного головной мозг промывали охлажденным 4 °С 0.9 %-ным раствором KCl, измельчали и гомогенизировали в среде выделения следующего состава (в миллимолях на 1 л): сахараза – 250, TrisHCl – 10, ЭДТА – 1 и БСА – 0.1 % (рН 7.4) [18]. МХ тканей мозга выделяли с использованием стандартного метода дифференциального центрифугирования оргanelл в среде выделения.

Процессы дыхания и окислительного фосфорилирования в МХ тканей каждого из полушарий головного мозга изучали с помощью полярографического метода, по Чансу, с использованием закрытого электрода Кларка и устройства Оксиграф при 26 °С [19]. Среда инкубации содержала в себе (в миллимолях на 1 л): сахарозу – 300,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  – 5, TrisHCl – 2 (рН 7.4). В качестве субстратов окисления использовали сукцинат натрия (5 мМ), глутамат (5 мМ) и малат (2.5 мМ). Как ингибитор ферментного комплекса I МХ применялся ротенон (2 мМ). Процесс дыхания стимулировали путем внесения в полярографическую ячейку 200 мкМ АДФ. Оценку количества белка производили по методу Лоури [20].

Согласно полученным хроно-амперографическим кривым рассчитывали параметры дыхания МХ – скорость потребления кислорода при отсутствии АДФ в состоянии покоя (V2), скорость дыхания с фосфорилированием (в метаболическом состоянии 3, по Чансу, V3) и контролируемого дыхания (в метаболическом состоянии 4, V4) МХ, коэффициент дыхательного контроля, по Чансу (V3/V4) и коэффициент эффективности фосфорилирования АДФ/О [21]. В работе использовали реактивы фирмы «Sigma» (США). Количественные результаты исследования обрабатывали статистически с использованием *t*-критерия Стьюдента; при оценке межгрупповых различий  $P < 0.05$  считали показателем значимости.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

*Показатели функционирования МХ при моделировании ХО ОСА.* В ходе анализа функциональных свойств МХ тканей головного мозга крыс с ХО ОСА были получены следующие результаты. В указанных условиях в случаях использования в качестве субстрата окисления сукцината+ротенон интенсивность АДФ-стимулированного дыхания (V3) МХ в обоих полушариях была снижена: в ЛП – в среднем на 28.4, а в ПП – на 15 % ( $P < 0.05$ ) по сравнению с контролем. Показатели дыхательного контроля (V3/V4) в ЛП и ПП были ниже на 31.5 и 21 % соответственно ( $P < 0.05$ ) на фоне падения эффективности фосфорилирования (АДФ/О: в ЛП – на 10 % vs. аналогичный показатель в ПП – на 6 %;  $P < 0.05$ ) (рис. 1).

Когда в качестве субстрата окисления использовали глутамат+малат, наблюдались аналогичные изменения показателей энергетического обмена в МХ обоих полушарий, что сопровождалось снижением интенсивности АДФ-стимулированного дыхания (V3 в ЛП на 34.5 % vs. в ПП – на 23.5 %;  $P < 0.05$ ) и выраженным уменьшением показателей дыхательного контроля (V3/V4 в ЛП на 50 % vs. в ПП – на 46 %,  $P < 0.05$ ). Одновременно эффективность использования  $O_2$  в тканях обоих полушарий головного мозга при левосторонней окклюзии ОСА также существенно снижалась (АДФ/О: в ЛП – на 12.7 % vs. в ПП – на 10 %;  $P < 0.05$ ) (рис. 2).

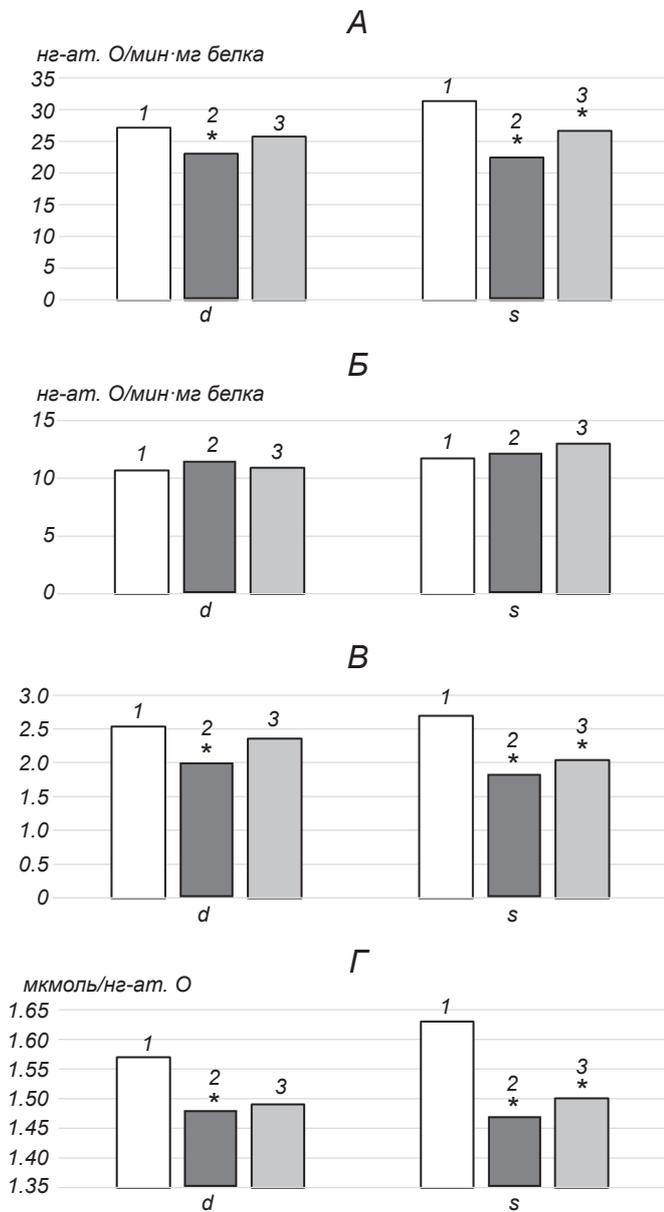
Изменения показателей дыхания МХ после использования субстратов окисления для комплексов

I и II дыхательной цепи этих органелл были более выраженными на стороне окклюзии ОСА (в ЛП); при исследовании комплекса I изменения были более значительными (рис. 1; 2).

Следует упомянуть, что в контроле выявлялась заметная межполушарная асимметрия дыхательной функции МХ в случае использования в качестве субстратов окисления глутамата+малата. Так, V3 в ЛП была выше таковой в ПП на 32, а V4 – на 26.4 % ( $P < 0.05$ ); эффективность фосфорилирования (АДФ/О) в ЛП отличалась от таковой в ПП на 6.2 % ( $P < 0.05$ ) (рис. 2).

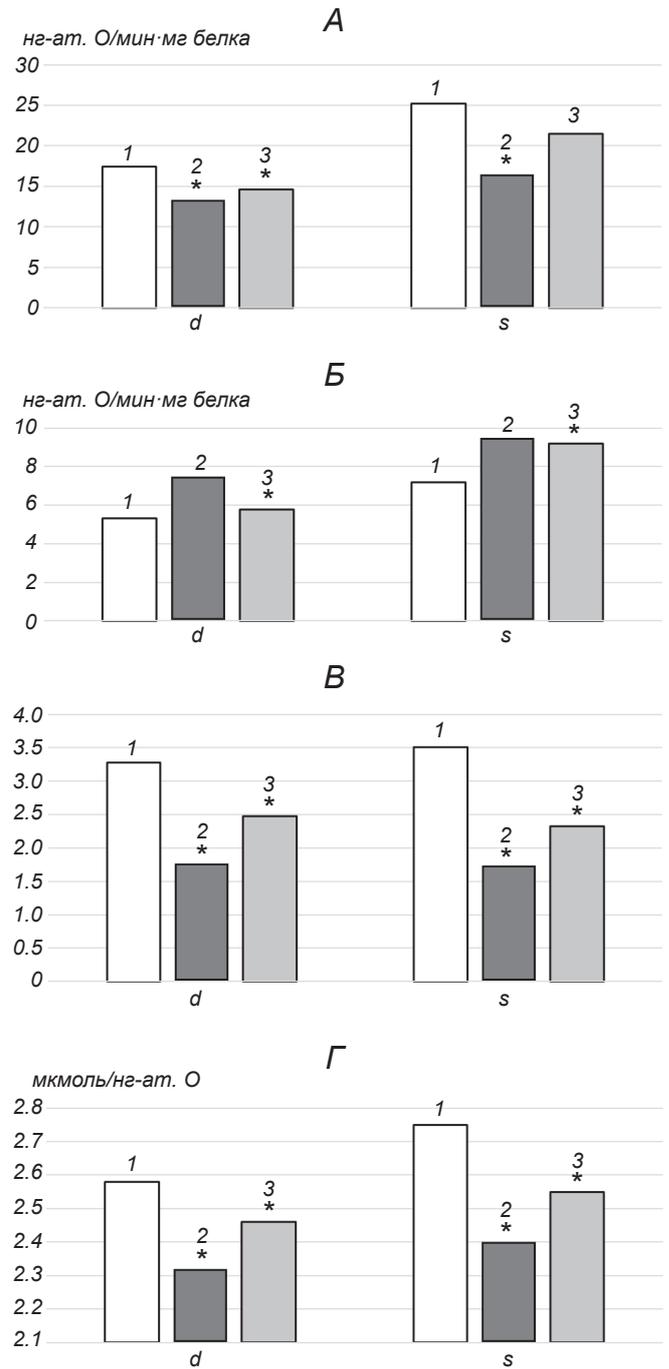
*Влияние ВАРН на показатели функционирования МХ при моделировании ХО ОСА.* Блокатор ЛО ВАРН (0.02 %-ный водный раствор) поступал в организм подопытных животных в процессе питья на протяжении восьми недель. Анализ функциональных свойств МХ в соответствующей группе показал, что при использовании в качестве субстрата окисления сукцината+ротенон интенсивность АДФ-стимулированного дыхания (V3) в МХ тканей обоих полушарий была сниженной: в ЛП в среднем на 15.1, а в ПП – на 5.2 % ( $P < 0.05$ ). Показатели дыхательного контроля (V3/V4) в ЛП и ПП также были уменьшенными – на 24.2 и 6.8 % соответственно ( $P < 0.05$ ); это наблюдалось на фоне падения эффективности фосфорилирования (АДФ/О: в ЛП – на 8 % vs. в ПП – на 5.1 %;  $P < 0.05$ ) (рис. 1). При сравнении с данными, полученными в результате изолированного действия ХО ОСА, показатели функционирования МХ несколько возрастали: в ЛП – в среднем на 13.3, 7.3 и 2.0 %, а в ПП – на 9.8, 14.2 и 0.9 % соответственно ( $P < 0.05$ ).

Если в качестве субстратов окисления использовали глутамат+малат, аналогичные изменения наблюдались в обоих полушариях мозга. Интенсивность АДФ-стимулированного дыхания (V3) была сниженной в ЛП на 14.7, а в ПП – на 16.1 % ( $P < 0.05$ ). Отмечалось значительное уменьшение показателей дыхательного контроля (V3/V4) в ЛП и ПП на 33.7 и 24.4 % соответственно ( $P < 0.05$ ). Происходило снижение эффективности использования  $O_2$  (АДФ/О) – в ЛП в среднем на 7.3, а в ПП – на 4.7 % ( $P < 0.05$ ). При этом под действием ВАРН в заметной степени восстанавливались показатели функционирования МХ: в ЛП – на 19.8, 16.3 и 5.4 %, а в ПП – на 7.4, 21.6 и 5.3 % по сравнению с аналогичными индексами в группе ХО ОСА ( $P < 0.05$ ) (рис. 2).



**Рис. 1.** Средние значения характеристик дыхания митохондрий в тканях полушарий мозга (*d* – правого, *s* – левого) крыс в условиях окклюзии общей сонной артерии (ОСА) при использовании в качестве субстрата сукцината+ротенон. *A* – метаболическое состояние 3, по Чансу (V3); *B* – метаболическое состояние 4, по Чансу (V4); *B* – индекс дыхательного контроля (V3/V4); *Г* – эффективность использования  $O_2$  (АДФ/О). 1 – контроль, 2 – после окклюзии левой ОСА, 3 – после окклюзии ОСА и курса перорального введения блокатора лизилоксидазы аминопроприонитрила (ВАРН). \*Отличия от показателя в контроле достоверны ( $P < 0.05$ ).

**Рис. 1.** Середні значення характеристик дихання мітохондрій у тканинах півкуль мозку (*d* – правої, *s* – лівої) щурів в умовах оклюзії загальної сонної артерії при використанні як субстрату сукцинату+ротенон.



**Рис. 2.** Средние значения характеристик дыхания митохондрий в тканях полушарий мозга крыс при использовании в качестве субстрата глутамата+малата. *A* – метаболическое состояние 3 (V3); *B* – метаболическое состояние 4 (V4); *B* – индекс дыхательного контроля (V3/V4); *Г* – эффективность использования  $O_2$  (АДФ/О). Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

**Рис. 2.** Середні значення характеристик дихання мітохондрій у тканинах мозку щурів при використанні як субстрату глутамату+малату.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что МХ являются одной из основных мишеней, подвергающейся повреждению свободными радикалами при гипоксии/ишемии, что приводит к существенному уменьшению продукции энергии дыхательной цепью МХ [22]. Полученные нами данные согласуются с результатами исследования интенсивности функционирования МХ-комплекса I в головном мозгу приматов [23]. В соответствующих опытах была выявлена пониженная активность этого комплекса в условиях ишемии/реперфузии тканей головного мозга, что связывают с депрессией процессов дыхания в МХ. Выраженные нарушения функций МХ при инсультах проявляются в снижении интенсивности окислительного фосфорилирования, увеличении образования активных форм кислорода (АФК), нарушениях кальциевого гомеостаза в МХ, что в конечном итоге может приводить к гибели нейронов [24–26]. В условиях хронической гипоперфузии головного мозга уменьшается доставка кислорода к тканям, падает интенсивность окислительного фосфорилирования, угнетается активность комплексов I и II в МХ [27]. Значительное снижение скорости потребления кислорода в присутствии субстратов окисления для комплексов I и II при ишемии мозга свидетельствует о существенных нарушениях процессов окислительного фосфорилирования в МХ, что отмечалось и в наших собственных исследованиях [28].

Кроме того, дисфункция МХ может быть результатом повреждения определенных механизмов, обеспечивающих деятельность гемато-энцефалического барьера. В частности, такие повреждения могут быть связаны с изменениями функционирования специфического белка – АТФ-связывающего кассетного переносчика (АВС-транспортера). Подобные сдвиги могут быть решающими для развития ряда патологических состояний [29]. Например, АВСВ10-переносчик идентифицирован как часть потенциального механизма, который способен предотвращать развитие окислительного стресса [30]. Уменьшение активности АВСВ10-переносчика было выявлено при некоторых нейродегенеративных заболеваниях [31, 32]. Полагают, что нарушение активности АВС-транспортера приводит к ослаблению процессов детоксикации в определенных областях мозга. Это связывают, в частности, с повреждением и гибелью нейронов черной суб-

станции при болезни Паркинсона, клеток хвостатого ядра при болезни Хантингтона и нейронов гиппокампа/височной коры при болезни Альцгеймера [33].

В условиях инсульта возникают целый ряд нарушений внутриклеточного редокс-статуса и кальциевого гомеостаза в МХ [34]. Избыток ионов  $Ca^{2+}$  приводит к прогрессированию дисфункции МХ, которая опосредуется нарушениями активности кальцийзависимых ферментов (например, mtNOS). Показано, что mtNOS функционально связана с комплексом I дыхательной цепи МХ. При активации комплекса I mtNOS активна и генерирует заметные количества NO, используя обратный электронный перенос [35]. Инактивация комплекса I приводит к нарушению функции mtNOS. Этот фермент начинает продуцировать АФК (т. е. становится прооксидантным агентом), участвуя, таким образом, в развитии и усилении оксидативного стресса [36]. При существенной «перегрузке» МХ ионами  $Ca^{2+}$  интенсивность процессов в дыхательной цепи МХ на участке комплекса I снижается; в случае блокады данного комплекса тканевое дыхание осуществляется по «обходному пути» через комплекс II дыхательной цепи МХ [37].

Нарушение функционирования МХ в условиях гипоперфузии головного мозга со стороны, контралатеральной перевязке ОСА, может возникать в результате развития так называемого синдрома обкрадывания. Некоторые особенности развития большого артериального круга (которые в общем могут быть вариантом нормы) предполагают частичное обеспечение кровоснабжения больших полушарий за счет сосудов противоположной стороны. Функция последних при стенозе/окклюзии ОСА нарушается. В условиях нормального развития большого артериального круга объем крови, поступающий к головному мозгу, перераспределяется между участками с неизменным кровотоком и участками со сниженным кровоснабжением. Это в конечном итоге приводит к уменьшению объемов циркулирующей крови как в ипси-, так и в контралатеральном полушарии, а следовательно – к тем или иным девиациям функционирования МХ в обоих полушариях.

Отмеченные в нашем эксперименте у контрольных крыс межполушарные различия активности МХ-комплексов, по-видимому, могут быть связаны с различной общей интенсивностью функционирования полушарий мозга и особенностями специализации выполняемых ими функций.

ЛО – это фермент, который катализирует образование перекрестных связей во внеклеточных матричных белках (коллагене и эластине). Для данного фермента характерна определенная специфика вне- и внутриклеточного распределения в структурах головного мозга [38]. Этот фермент, будучи внеклеточным протеином, экспрессируется в мозгу крыс и мышей в сосудистых сплетениях, стенках сосудов, глиальном матриксе мозга. Внутри нейронов ЛО локализована в цитоплазме. Установлено, что активность ЛО в гиппокампе и стенках церебральных сосудов при болезни Альцгеймера и деменциях повышена [38, 39].

В случаях повреждения ЦНС той или иной природы ЛО активно синтезируется и секретируется клетками, непосредственно прилегающими к участкам повреждения. ЛО также участвует в модуляции функций внеклеточного матрикса, что при патологических условиях может сопровождаться значительным накоплением зрелых коллагеновых волокон и образованием рубцов. Было показано, что ферментативная активность ЛО непосредственно в области повреждения тканей мозга также резко увеличивается [40]. Описанные изменения внеклеточного матрикса и образование рубцов после повреждения ЦНС оказываются чрезмерно интенсивными и препятствуют регенерации аксонов, ограничивая тем самым функциональное восстановление нервных клеток. В свою очередь, ингибирование ЛО с помощью VAPN способствовало ускорению процесса восстановления, однако признаки регенерации аксонов отсутствовали [41].

Рассматриваемый фермент также идентифицируют как потенциальный существенный источник образования АФК; при оксидативном стрессе регистрируется увеличение его активности [42]. Показано, что в условиях ишемии мозга происходит активация NIF-1 $\alpha$ ; последний, в свою очередь, способствует усилению экспрессии ЛО и увеличению ее активности [43].

Блокирование ЛО при моделировании ХО ОСА в наших экспериментах при помощи VAPN обеспечивало некоторые позитивные изменения функции МХ, приводя к частичному восстановлению показателей их функционирования. Это могло происходить в результате уменьшения интенсивности образования АФК. Увеличение количества H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, продуцируемого в качестве побочного продукта при функционировании ЛО, вероятно, также заметно влияет на работу МХ и обуславливает опреде-

ленные нарушения их функционирования. Результаты исследования SOD1 (mSOD1) на трансгенных мышцах G93A свидетельствовали о возрастании активности ЛО и количества LOX-мРНК в головном и спинном мозгу [23]. Эти факты указывают на непосредственную связь изменений активности ЛО с патологическим процессом и на то, что такие изменения опосредуются (во всяком случае частично) интенсивным образованием АФК. Другая линия трансгенных мышей с усиленной экспрессией ЛО в гладкомышечных клетках сосудов (TgLOX) предполагает существование двух устойчивых практически неразличимых фенотипов. Было показано, что у мышей TgLOX наблюдается аномально высокая экспрессия ЛО в сонных артериях и аорте, что сопровождалось ремоделированием сосудов [44]. Интенсивная экспрессия ЛО у этих мышей была связана с увеличением количества маркеров окислительного стресса (ростом уровней H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и O<sub>2</sub>), повышением уровня NADPH-оксидазы и митохондриальной дисфункцией. В то же время блокирование активности ЛО с помощью VAPN предотвращало развитие упомянутых эффектов [42].

Таким образом, можно заключить, что ХО ОСА способствует развитию нарушений процессов тканевого дыхания и энергопродукции МХ в обоих полушариях головного мозга, причем такие изменения на стороне окклюзии выражены больше. Предотвращение нарушений работы МХ в тканях мозга на фоне ХО ОСА при использовании блокатора ЛО VAPN может свидетельствовать о непосредственном вовлечении активности ЛО в развитие упомянутых функциональных нарушений в соответствующих патогенетических условиях.

Исследования проводились согласно положениям Международных конвенций по защите животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (Страсбург, 1985), а также согласно положениям Комитета по биоэтике Института физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины.

Авторы данной работы – О. Ю. Гарматина, В. И. Носарь, Е. Э. Колесникова, Т. Ю. Лапикова-Брыгинская, Л. В. Братусь и А. Г. Портниченко – подтверждают отсутствие конфликтов любого рода относительно коммерческих или финансовых отношений, отношений с организациями или лицами, которые каким-либо образом могли быть связаны с исследованием, а также взаимоотношений соавторов статьи.

О. Ю. Гарматина<sup>1</sup>, В. И. Носарь<sup>1</sup>, С. Е. Колесникова<sup>1</sup>,  
Т. Ю. Лапікова-Бригінська<sup>1</sup>, Л. В. Братусь<sup>1</sup>,  
А. Г. Портніченко<sup>1</sup>

ФУНКЦІЙНИЙ СТАН МІТОХОНДРІЙ ТКАНИН  
ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ В УМОВАХ  
ХРОНІЧНОЇ ОКЛЮЗІЇ ЗАГАЛЬНОЇ СОННОЇ  
АРТЕРІЇ: РОЛЬ ЛІЗИЛОКСИДАЗИ

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України,  
Київ (Україна).

Резюме

Стенози та оклюзії загальної сонної артерії (ЗСА) є однією з основних причин цереброваскулярних патологій, оскільки вони призводять до гіперперфузії головного мозку. Порушення експресії лізилоксидази (ЛО) лежать в основі розвитку багатьох патологічних процесів, включаючи судинні та церебральну патології; зміни активності цього ферменту, вірогідно, істотно впливають на функції мітохондрій (МХ). Ми вивчали роль ЛО в регуляції енергетичного метаболізму в головному мозку щурів в умовах експериментальної унілатеральної хронічної оклюзії ЗСА (ХО ЗСА). Дослідження проводили на щурах лінії Вістар, яким накладали лігатуру на ліву ЗСА. Тварини однієї з груп із ХО ЗСА споживали 0.02 %-вий розчин блокатора ЛО β-амінопропіонітрилу (BAPN) у питній воді протягом восьми тижнів. Після курсу таких уведень оцінювали характеристики енергетичного метаболізму МХ тканин півкуль головного мозку (лівої – ЛП і правої – ПП) із використанням полярографії. ХО ЗСА супроводжувалася порушеннями тканинного дихання та окисного фосфорилування в МХ; ці зміни були більш вираженими в ЛП ( $P < 0.05$ ), але і в ПП вони виявилися досить помітними. Були отримані вказівки на наявність міжпівкульних відмінностей у функціонуванні комплексу I МХ у здорових контрольних тварин (з більшими значеннями в ЛП). Уведення BAPN сприяли частковому відновленню функцій МХ, що проявлялось у деякому послабленні ефектів оклюзії ЗСА. Таким чином, в умовах ХО ЗСА відбувається погіршення енергетичного метаболізму МХ в обох півкулях. Зміни активності ЛО є одним із факторів, котрі є відповідальними за порушення показників функціонування МХ, пов'язані з гіперперфузією тканин мозку.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. W. J. Powers, G. A. Press, R. L. Grubb, Jr., et al., "The effect of hemodynamically significant carotid artery disease on the hemodynamic status of the cerebral circulation," *Ann. Int. Med.*, **106**, 27-34 (1987).
2. А. А. Болдырев, "Роль активных форм кислорода в жизнедеятельности нейрона", *Успехи физиол. наук*, **34**, № 3, 21-34 (2003).
3. Е. И. Гусев, В. И. Скворцов, *Ишемия головного мозга*, Медицина, Москва (2001).
4. А. Р. Kudin, Т. А. Kudina, J. Seyfried, et al., "Seizure-dependent modulation of mitochondrial oxidative phosphorylation in rat hippocampus," *Eur. J. Neurosci.*, **15**, No. 7, 1105-1114 (2002).
5. Т. Ohtsuki, М. Matsumoto, К. Suzuki, et al., "Mitochondrial lipid peroxidation and superoxide dismutase in rat hypertensive target organs," *Am. J. Physiol.*, **268**, H1418-H1421 (1995).
6. W. S. Kunz, I. V. Goussakov, H. Beck, et al., "Altered mitochondrial oxidative phosphorylation in hippocampal slices of kainate-treated rats," *Brain Res.*, **826**, No. 2, 236-242 (1999).
7. D. Yates, "Cell biology of the neuron: fuelling transport," *Nat. Rev. Neurosci.*, **14**, No. 3, 156 (2013).
8. О. Kann, "The interneuron energy hypothesis: Implications for brain disease," *Neurobiol. Dis.*, **90**, 75-85 (2016).
9. К. Csiszar, "Lysyl oxidases: a novel multifunctional amine oxidase family," *Prog. Nucl. Acid Res. Mol. Biol.*, **70**, 1-32 (2001).
10. L. I. Smith-Mungo and H. M. Kagan, "Lysyl oxidase: properties, regulation and multiple functions in biology," *Matrix Biol.*, **16**, No. 7, 387-398 (1998).
11. J. T. Erler, K. L. Bennewith, M. Nicolau, et al., "Lysyl oxidase is essential for hypoxia-induced metastasis," *Nature*, **440**, 1222-1226 (2006).
12. R. Schietke, C. Warnecke, I. Wacker, et al., "The lysyl oxidases LOX and LOXL2 are necessary and sufficient to repress E-cadherin in hypoxia: insights into cellular transformation processes mediated by HIF-1," *J. Biol. Chem.*, **285**, No. 9, 6658-6669 (2010).
13. R. da Silva, M. Uno, S. K. Marie, and S. M. Oba-Shinjo, "LOX expression and functional analysis in astrocytomas and impact of IDH1 mutation," *PLoS One*, **10**, No. 3, e0119781 (2015).
14. C. Rodríguez, J. Martínez-González, B. Raposo, et al., "Regulation of lysyl oxidase in vascular cells: lysyl oxidase as a new player in cardiovascular diseases," *Cardiovascul. Res.*, **79**, No. 1, 7-13 (2008).
15. H. Akagawa, A. Narita, H. Yamada, et al., "Systematic screening of lysyl oxidase-like (LOXL) family genes demonstrates that LOXL2 is a susceptibility gene to intracranial aneurysms," *Human Genet.*, **121**, Nos. 3/4, 377-387 (2007).

16. M. Majora, T. Wittkampf, B. Schuermann, et al., "Functional consequences of mitochondrial DNA deletions in human skin fibroblasts: increased contractile strength in collagen lattices is due to oxidative stress-induced lysyl oxidase activity," *Am. J. Pathol.*, **175**, No. 3, 1019-1029 (2009).
17. A. M. Baker, D. Bird, J. C. Welte, et al., "Lysyl oxidase plays a critical role in endothelial cell stimulation to drive tumor angiogenesis," *Cancer Res.*, **73**, No. 2, 583-594 (2013).
18. А. Л. Тоньшин, Н. В. Лобышева, Л. С. Ягужинский и др., "Влияние тормозного нейромедиатора глицина на медленные деструктивные процессы в срезах коры больших полушарий головного мозга при аноксии", *Биохимия*, **72**, № 5, 631-641 (2007).
19. B. Chance and G. Williams, "The respiratory chain and oxidative phosphorylation," *Adv. Enzymol.*, **17**, 65-134 (1956).
20. R. W. Estabrook, "Mitochondrial respiratory control and the polarographic measurement of ADP:O ratio," *Methods Enzymol.*, **10**, 41-47 (1967).
21. *Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом*, под ред. В. Г. Франка, Наука, Москва (1971).
22. Л. Д. Лукьянова, "Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции", *Бюл. эксперим. биологии и медицины*, **124**, No. 9, 244-254 (1997).
23. H. Tsukada, "The use of <sup>18</sup>F-BCPP-EF as a PET probe for complex I activity in the brain," *Methods Enzymol.*, **547**, 417-431 (2014).
24. E. T. Chouchani, V. R. Pell, E. Gaude, et al., "Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS," *Nature*, **515**, No. 7527, 431-435 (2014).
25. D. N. Doll, H. Hu, J. Sun, et al., "Mitochondrial crisis in cerebrovascular endothelial cells opens the blood-brain barrier," *Stroke*, **46**, No. 6, 1681-1689 (2015).
26. A. C. Schinzel, O. Takeuchi, Z. Huang, et al., "Cyclophilin D is a component of mitochondrial permeability transition and mediates neuronal cell death after focal cerebral ischemia," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, No. 34, 12005-12010 (2005).
27. J. C. de la Torre, "Are major dementias triggered by poor blood flow to the brain? Theoretical considerations," *J. Alzheimers Dis.*, **57**, No. 2, 353-371 (2017).
28. K. R. Dave, I. Saul, R. Busto, et al., "Ischemic preconditioning preserves mitochondrial function after global cerebral ischemia in rat hippocampus," *J. Cerebr. Blood Flow Metab.*, **21**, No. 12, 1401-1410 (2001).
29. J. Pahnke, C. Fröhlich, M. Krohn, et al., "Impaired mitochondrial energy production and ABC transporter function-A crucial interconnection in dementing proteopathies of the brain," *Mech. Ageing Dev.*, **134**, No. 10, 506-515 (2013).
30. M. Liesa and W. Qiu, "Shirihai Mitochondrial ABC transporters function: the role of ABCB10 (ABC-me) as a novel player in cellular handling of reactive oxygen species," *Biochim. Biophys. Acta*, **1823**, No. 10, 1945-1957 (2012).
31. M. Krohn, C. Lange, J. Hofrichter, et al., "Cerebral amyloid- $\beta$  proteostasis is regulated by the membrane transport protein ABCB1 in mice," *J. Clin. Invest.*, **121**, No. 10, 3924-3931 (2011).
32. D. M. van Assema, M. Lubberink, P. Rizzu, et al., "Blood-brain barrier P-glycoprotein function in healthy subjects and Alzheimer's disease patients: effect of polymorphisms in the ABCB1 gene," *EJNMMI Res.*, **2**, No. 1, 57 (2012).
33. A. L. Bartels, A. T. Willemsen, R. Kortekaas, et al., "Decreased blood-brain barrier P-glycoprotein function in the progression of Parkinson's disease, PSP and MSA," *J. Neural Transm.*, **115**, No. 7, 1001-1009 (2008).
34. Y. Liao, Y. Dong, and J. Cheng, "The function of the mitochondrial calcium uniporter in neurodegenerative disorders," *Int. J. Mol. Sci.*, **18**, No. 2, 248-252 (2017).
35. S. S. Bombicino, D. E. Iglesias, T. Zaobornyj, et al., "Mitochondrial nitric oxide production supported by reverse electron transfer," *Arch. Biochem. Biophys.*, **607**, 8-19 (2016).
36. M. S. Parihar, A. Parihar, F. A. Villamena, et al., "Inactivation of mitochondrial respiratory chain complex I leads mitochondrial nitric oxide synthase to become pro-oxidative," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **367**, No. 4, 761-767 (2008).
37. M. S. Parihar, R. R. Nazarewicz, E. Kincaid, et al., "Association of mitochondrial nitric oxide synthase activity with respiratory chain complex I," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **366**, No. 1, 23-28 (2008).
38. G. M. Gilad, H. M. Kagan, and V. H. Gilad, "Evidence for increased lysyl oxidase, the extracellular matrix-forming enzyme, in Alzheimer's disease brain," *Neurosci. Lett.*, **376**, No. 3, 210-214 (2005).
39. P. A. Li, Q. He, T. Cao, et al., "Up-regulation and altered distribution of lysyl oxidase in the central nervous system of mutant SOD1 transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis," *Mol. Brain Res.*, **120**, No. 2, 115-122 (2004).
40. G. M. Gilad, H. M. Kagan, and V. H. Gilad, "Lysyl oxidase, the extracellular matrix-forming enzyme, in rat brain injury sites," *Neurosci. Lett.*, **310**, No. 1, 45-48 (2001).
41. G. M. Gilad and V. H. Gilad, "Beta-aminopropionitrile treatment can accelerate recovery of mice after spinal cord injury," *Eur. J. Pharmacol.*, **430**, No. 1, 69-72 (2001).
42. S. Martínez-Revelles, A. B. García-Redondo, M. S. Avendaño, et al., "Lysyl oxidase induces vascular oxidative stress and contributes to arterial stiffness and abnormal elastin structure in hypertension: role of p38MAPK," *Antioxid Redox Signal.*, **27**, No. 7, 379-397 (2017).
43. A. Guadall, M. Orriols, J. F. Alcudia, et al., "Hypoxia-induced ROS signaling is required for LOX up-regulation in endothelial cells," *Front. Biosci. (Elite Ed.)*, **1**, No. 3, 955-967 (2011).
44. M. Orriols, A. Guadall, M. Galán, et al., "Lysyl oxidase (LOX) in vascular remodelling. Insight from a new animal model," *Thromb. Haemost.*, **112**, No. 4, 812-824 (2014).