

БИОЛОГИЯ СТАРЕНИЯ

"Пробл. старения и долголетия", 2013, 22, № 3. — С. 223–233

УДК 612.67+612.82+612.27:577.158

О. К. Кульчицкий, Р. І. Потапенко, С. М. Новікова

*Державна установа "Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова
НАМН України", 04114 Київ*

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН АКТИВНОСТІ ВІЛЬНО-РАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ І СКЛАДУ ЛІПІДНОГО МАТРИКСУ СИНАПТИЧНИХ МЕМБРАН НЕЙРОНІВ ПІВКУЛЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ПРИ ГОСТРІЙ ГІПОБАРИЧНІЙ ГІПОКСІЇ

Встановлено, що в синаптичних мембранах (СМ) нейронів півкуль головного мозку 28–30-місячних (старих) нелінійних щурів-самців порівняно з 8-місячними (дорослими) активуються процеси вільно-радикального окиснення ліпідів (ВРОЛ), про що свідчить зростання вмісту метаболітів окисної трансформації як вільних поліненасичених жирних кислот (ПНЖК), так і ПНЖК-ланцюгів у складі мембранних фосфоліпідів (ФЛ). Інтенсифікації ВРОЛ сприяє активація гідролізу ФЛ посиленням утворенням як лізофосфатидилхолінів, так і вільних ПНЖК. Активація ВРОЛ ЖК-ланцюгів ФЛ відбувається всупереч зменшенню кількості ПНЖК в їх складі. Свідченням останнього є зменшення пулу ізопропанол-розчинних сполук з ізольованими подвійними зв'язками. За дії гострої гіпоксії ВРОЛ активується в СМ нейронів мозку щурів обох вікових груп. В СМ мозку дорослих щурів перекисненню підпадають лише вільні ПНЖК, а у старих спостерігається подальше зростання пероксидації ЖК-ланцюгів безпосередньо у складі мембранних ФЛ, що супроводжується їх накопиченням. Останнє веде до молекулярної дезорганізації ліпідного матриксу СМ нейронів, порушень функціонування мембрано-сполучених ферментів, рецепторів, вторинних месенджерів, а відтак до порушення функцій синапсів.

Ключові слова: старіння, синаптичні мембрани, вільно-радикальне окиснення ліпідів, фосфоліпіди, гіпоксія.

Одним із проявів старіння людини і тварин є модуляція функцій головного мозку — зміна поведінки, зниження пам'яті, здатності до навчання, здатності пристосовуватись до мінливих умов внутрішнього та зовнішнього середовища та ін. [17]. Істотну (коли не провідну) роль у цьому можуть відігравати вікові зміни нейрональних мембран, в першу чергу високо-специфічних плазматичних мембран нервових кінцівок — синаптичних мембран (СМ), які беруть безпосередню участь в інтегративній діяльності мозку, опосередковують вплив різних стресових чинників довкілля.

Встановлено, що вплив будь-яких екстремальних чинників, як і розвиток патологічних процесів, різних неврологічних розладів, пов'язаних з порушенням O_2 -забезпеченості нейронів. Більш того, СМ — це місце реалізації дії гіпоксії. Саме вони залучаються у каскад біохімічних і патофізіологічних змін, що мають назву "окисний стрес" (ОС), чільне місце в якому займають процеси вільно-радикального окиснення ліпідів (ВРОЛ), на які так багаті СМ. Незважаючи на неспецифічність, ВРОЛ відображає вірогідність переходу адаптаційних змін біологічних мембран у патологічні (руйнівні). Активність процесів ВРОЛ значною мірою залежить від складу ліпідного матриксу біомембран і одночасно є своєрідним інструментом модуляції їх фізико-хімічного складу, проникності для метаболітів та інших сполук, активності мембраносполучених ферментів, рецепторів і ряду мессенджерів, а відтак — регулятором функціонально-метаболічного стану, беручи участь таким чином у формуванні адаптивних реакцій. Втім, надлишкова продукція вільних радикалів, дисбаланс про- і антиоксидантної систем або їх поєднання можуть призвести до розвитку ОС та стати ланцюгом різних патологічних станів і окремих захворювань.

Раніше проведеними дослідженнями нами не було зареєстровано істотних відмінностей активності процесів ВРОЛ у гомогенатах [10, 17] і СМ нейронів [9] півкуль головного мозку 24-місячних щурів у порівнянні з 7–8-місячними. Аналогічні результати одержані також іншими дослідниками в гомогенатах різних структур головного мозку [21]. Втім, є і протилежні результати. Найчастіше це зумовлено використанням у дослідах співставленням (у першу чергу щурів іншого віку — найчастіше 3–5 міс та 15–18 міс) різних ліній і статі [12], методичних підходів, а також неоднаковою спрямованістю вікових змін в окремих структурах мозку [22, 25], зокрема ферментів антиоксидантного захисту [12, 19].

Беручи до уваги вищенаведене, з метою з'ясування біохімічних механізмів вікових змін функцій головного мозку при старінні проведено порівняльне дослідження процесів ВРОЛ і складу ліпідного матриксу СМ нейронів півкуль головного мозку дорослих (8 міс) і щурів більш старшого (28–30 міс) віку як за умов фізіологічного спокою, так і функціонального напруження (дії гострої гіпоксії).

Матеріал та методи. Дослідження проведено на 8-місячних (дорослих) та 28–30-місячних (старих) нелінійних щурах-самцях, які були розподілені на дві групи (по десять тварин): 1 — контрольні (інтактні) і

2 — дослідні (перебування у барокамері на "висоті" 8000 м протягом 90 хв, швидкість "підйому" і "спуску" — 1000 м/хв).

Евтаназію всіх тварин (через 10 хв після закінчення "спуску") здійснювали миттєвим відокремленням голови. Вилучені півкулі головного мозку гомогенізували (0,3 М розчин сахарози, 0,05 М трис, 0,005 М ЕДТА; рН 7,4) у співвідношенні 1:10 (маса/об'єм). Синаптичні мембрани виділяли з грубої мітохондріальної фракції, попередньо підданої гіпотонічному шоку (3-хвилинна інкубація у бідистильованій воді), з використанням градієнта густини сахарози. Ліпіди СМ екстрагували хлороформ/метаноловою (1:2) та гептан/ізопропаноловою (1:1) сумішами з додаванням 1мМ ЕДТА. У хлороформному екстракті визначали вміст холестерину (ХС), загальних фосfolіпідів (ЗФЛ) за P_i після мінералізації [26], окремих фракцій ФЛ методом двомірної тонкошарової хроматографії на силікагелевих пластинах ("Silufol", Чехія). Ідентифікацію проводили, використовуючи кольорові реакції і "свідки" [5].

Активність процесів ВРОЛ оцінювали за вмістом дієнових і триєнових кон'югатів (ДК і ТК, відповідно) з роздільною реєстрацією у гептановій (нейтральні ліпіди — НЛ) і ізопропаноловій (фосfolіпіди — ФЛ) фазах екстракту методом спектрофотометрії при, відповідно, 232 нм та 278 нм [2] і виражали у нмоль/мг білка СМ. За кількістю ізолюваних подвійних зв'язків (ІПЗ), які визначали спектрофотометрично при 208 нм ($D_{208}/\text{мг}$ білка) [2], обчислювали також відносний вміст первинних продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та індекс окиснення ліпідів (ІОЛ) як співвідношення величин оптичної густини ДК або ТК і величин оптичної густини ІПЗ в обох фазах екстракту (D_{232}/D_{208} і D_{278}/D_{208}). Ендогенні альдегіди визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою, виражаючи вміст у нмоль малонового діальдегіду (МДА) на мг білка, основи Шифа (ОШ), похідні альдегідів — у хлороформному екстракті ліпідів шляхом вимірювання флуоресценції при 440 нм (λ збудження 350 нм, спектрофлуориметр "Hitachi MPF4", Японія) і виражали в умовних одиницях як співвідношення величин флуоресценції і вмісту білків [4]. Білки визначали модифікованим методом Лоурі [23].

Статистичну обробку одержаних результатів проводили з використанням t -критерія Стьюдента.

Результати та їх обговорення За умов фізіологічного спокою активність процесів ВРОЛ у СМ нейронів півкуль головного мозку шурів різного віку істотно відрізняється, про що свідчить неоднаковий вміст їх метаболітів (табл. 1). В СМ мозку 28–30-місячних тварин у порівнянні з 8-місячними збільшується вміст ДК (на 33 %) і ТК (на 31 %) гептан-розчинних НЛ, основну частину яких складають вільні ЖК, та ДК ПНЖК-ланцюгів у складі ізопропанол-розчинних ФЛ (на 64 %). Зростає в СМ старих шурів і ІОЛ, перевищуючи рівень, притаманний дорослим шурам у випадку дієнкової кон'югації ($D_{233}/208$), вільних ПНЖК (на 19 %), ацильних ланцюгів ФЛ (на 47 %), а також триєнкової кон'югації ($D_{278}/208$, на 25 %). Зростає в СМ мозку старих шурів і

вміст кінцевих метаболітів переокисної трансформації ПНЖК: МДА (на 32 %), а також їх флюоресцируючих похідних — ОШ (на 82 %) та співвідношення ОШ/МДА (на 31 %). Посилене утворення ОШ певною мірою буде сприяти меншому накопиченню токсичних альдегідів.

Таблиця 1

Рівень метаболітів вільно-радикального окиснення ліпідів та ізольованих подвійних зв'язків у синаптичних мембранах нейронів півкуль головного мозку щурів різного віку при дії гострої гіповаричної гіпоксії, $M \pm m$

Показник	Дорослі		Старі	
	контроль	дослід	контроль	дослід
<i>ДК, нмоль/мг білка</i>				
гептанова фаза	22,9 ± 0,9	24,3 ± 1,0	30,4 ± 2,4 [#]	25,7 ± 2,8
ізопропанолова фаза	15,7 ± 1,4	15,6 ± 2,8	25,8 ± 3,5 [#]	28,6 ± 1,7 [#]
<i>ТК, нмоль/мг білка</i>				
гептанова фаза	2,3 ± 0,3	4,2 ± 0,7*	3,0 ± 0,2 [#]	4,7 ± 0,7*
ізопропанолова фаза	10,1 ± 1,2	11,6 ± 1,0	10,3 ± 0,7	19,1 ± 1,6 ^{#*}
<i>ІПЗ, D₂₀₈/мг білка</i>				
гептанова фаза	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,01
ізопропанолова фаза	1,04 ± 0,06	0,91 ± 0,01	0,81 ± 0,04 [#]	0,75 ± 0,01 [#]
<i>D₂₃₃/D₂₀₈</i>				
гептанова фаза	1,7 ± 0,1	2,1 ± 0,1*	2,0 ± 0,1 [#]	2,3 ± 0,2
ізопропанолова фаза	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,16 ± 0,02 [#]	0,27 ± 0,01 ^{#*}
<i>D₂₇₈/D₂₀₈</i>				
гептанова фаза	0,14 ± 0,01	0,29 ± 0,04*	0,16 ± 0,01	0,21 ± 0,02*
ізопропанолова фаза	0,05 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,15 ± 0,01 ^{#*}
<i>МДА, нмоль/мг білка</i>	0,37 ± 0,04	0,47 ± 0,05	0,49 ± 0,05 [#]	0,47 ± 0,02
<i>Основи Шифа, ум. од.</i>	4,0 ± 0,6	4,0 ± 0,6	7,1 ± 0,5 [#]	6,1 ± 0,2 [#]

Примітки (тут і в табл. 2): * — $P < 0,05$ у порівнянні з контролем, [#] — $P < 0,05$ у порівнянні з дорослими щурами відповідної групи.

Зі збільшенням віку щурів зазнає змін і ліпідний склад СМ. Вміст основних компонентів мембран ХС і ЗФЛ (головних визначальників мікров'язкості ліпідного бішару) в СМ мозку старих щурів не відрізняється від такого у дорослих. Разом з тим, у них порівняно з дорослими зменшується кількість ІПЗ в ізопропаноловій частині екстракту ліпідів СМ, що вказує на зменшення пулу ненасичених ЖК-ланцюгів у складі ФЛ. Ці дані добре узгоджуються з одержаними нами раніше результатами щодо змін за старіння ЖК-складу ліпідів СМ, а саме, зменшення відносного вмісту ненасичених ЖК (18:2), особливо довголанцюгових ПНЖК (22:4 та 22:6), і зростання моноєнової (18:1), насиченої ЖК (18:0) і коефіцієнту насиченості [9]. Аналогічні за спрямованістю зміни ЖК-спектра спостерігаються в СМ нейронів півкуль головного мозку дорослих щурів за умов емоціонально-больового стресу [9] і вважаються адаптивними [1]. Такі зміни мають стримувати активацію ліпідної пероксидації і разом з тим призводити до збільшення мікров'язкості ліпідного бішару СМ. З огляду на останнє, встановлене підвищення вмісту ФС і ФІ (на 27 %), а також лізофосфатиділхолінів

(лФХ, майже в два рази) в СМ мозку старих щурів, можна розцінювати як позитивне явище, спрямоване на підтримання оптимального рівня мікрров'язкості СМ, необхідного для нормального функціонування рецепторів і мембраносполучених ферментів, особливо транспортної Na, K-АТФази, відносно якої ФС є також специфічним активатором [1], але може сприяти інтенсифікації ВРОЛ. Наслідком активації фосфоліпідного гідролізу у старих щурів буде також підвищення виходу ЖК-залишків ПНЖК зі складу мембранних ФЛ з утворенням вільних ПНЖК (зокрема, арахідонової кислоти), вміст яких істотно зростає [19, 20]. Вони поповнюватимуть пул гептан-розчинних субстратів ПОЛ і оксигеназних реакцій, спричиняючи їх активацію. Це призводить до зростання утворення як токсичних метаболітів ПОЛ, так і гуморально активних ейкозаноїдів.

Під впливом гострої гіпоксії процеси ПОЛ в СМ активуються у щурів обох вікових груп, проте мають кількісні і, особливо, якісні відмінності. Як свідчать наведені у табл. 1 результати досліджень, вміст ДК в обох фазах ліпідного екстракту СМ мозку дослідних щурів зберігається на рівні контрольних, реєструється тенденція до зростання лише індексу окиснення гептан-розчинних ліпідів ($D_{232}/208$) у дорослих (на 23 %). Разом з тим, в СМ мозку щурів обох вікових груп посилюється триєнова кон'югація вільних ПНЖК, на що вказує збільшення вмісту гептан-розчинних ТК, причому більш значне в СМ дорослих щурів (на 84 %, у старих — на 58 %). Втім, істотна різниця в активації процесу не позначається на рівні гептан-розчинних ТК — він однаковий у тварин обох вікових груп. Більше того, одночасне зростання у старих дослідних щурів на відміну від дорослих триєнкової кон'югації і ЖК-ланцюгів у складі мембранних ФЛ призводить загалом до значного збільшення сумарного вмісту цих продуктів перекисної трансформації ПНЖК в СМ у старих щурів, який на 65 % перевищує такий у дослідних дорослих. Слід зауважити, що, незважаючи на зростання триєнкової кон'югації вільних ПНЖК в СМ мозку дослідних дорослих і старих щурів, вміст гептан-розчинних сполук з ІПЗ залишається у них на рівні контрольних, що, як і у випадку співставлення інтактних старих і дорослих щурів, зумовлено зростанням деацилювання мембранних ФЛ і посиленням утворенням вільних ПНЖК.

Таким чином, наведені дані свідчать про те, що при гострої гіпоксії пероксидації підпадають переважно полієнові ЖК, що і зумовлює накопичення в СМ саме ТК. Подібне явище встановлено також іншими дослідниками в плазматичних мембранах кардіоміоцитів у хворих на ІХС [11] та плазмі крові хворих на ГХ [13]. Вміст флюоресцируючих метаболітів пероксидації ліпідів в СМ дослідних щурів залишається на рівні контрольних.

Активация ВРОЛ за дії гіпоксії спричинює ремодуляцію ліпідного матриксу СМ нейронів мозку щурів (табл. 2). В СМ дорослих дослідних щурів вміст ХС, загальних ФЛ та їх молярне співвідношення залишаються на рівні контрольних. В СМ мозку старих щурів істотно зростає вміст як ХС (на 63 %), так і ФЛ (на 30 %), а також їх молярне спів-

відношення (на 20 %). Це має протистояти активації ПОЛ, проте призведе до збільшення мікрів'язкості ліпідного матриксу. Істотне збільшення вмісту загальних ФЛ в СМ у мозку старих шурів після дії гіпоксії зумовлено, скоріш за все, накопиченням ушкоджених ФЛ, які містять окисно-трансформовані полієнові ЖК-ланцюги, про що свідчить різке зростання вмісту ізопропанол-розчинних ТК. Однією з причин цього явища є відсутність у старих дослідних шурів активації гідролізної деградації мембранних ФЛ, зниження активності ацилтрансфераз [24] і, як наслідок, порушення процесів деацильовання-реацильовання, які забезпечують оптимальний стан стабільності мембран. Цьому сприятиме і недостатність енергетичного забезпечення головного мозку старих шурів [17], що посилюватиметься за умов дефіциту кисню [3, 17].

Таблиця 2

Ліпідний склад синаптичних мембран нейронів півкуль головного мозку шурів різного віку при дії гострої гіпобаричної гіпоксії, $M \pm t$

Показник	Дорослі		Старі	
	контроль	дослід	контроль	дослід
Холестерин (ХС), <i>нмоль/мг білка</i>	465 ± 50	569 ± 51	456 ± 37	744 ± 62* [#]
Загальні фосфоліпіди (ФЛ), <i>нмоль/мг білка</i>	737 ± 47	815 ± 25	737 ± 38	956 ± 62* [#]
ХС/ФЛ	0,6 ± 0,1	0,76 ± 0,05	0,6 ± 0,1	0,78 ± 0,05*
Фракції ФЛ, % від загального вмісту				
фосфатиділхоліні (ФХ)	43,0 ± 1,8	39,0 ± 2,0	42,0 ± 1,9	41,0 ± 2,1
фосфатиділетаноаміні (ФЕ)	37,0 ± 1,7	37,0 ± 1,9	36,0 ± 2,2	38,0 ± 2,3
сфінгомеліні (СФМ)	4,8 ± 0,3	3,5 ± 0,3*	4,3 ± 0,2	3,4 ± 0,3*
фосфатиділсерини + фосфатиділінозитолі	11,0 ± 0,8	12,0 ± 1,0	4,0 ± 0,9 [#]	11,0 ± 0,7*
кардіоліпіні	0,7 ± 0,1	0,4 ± 0,1*	0,60 ± 0,05	0,8 ± 0,1* [#]
лізофосфатиділхоліні	0,58 ± 0,04	1,0 ± 0,1*	0,8 ± 0,1 [#]	0,8 ± 0,1
фосфатидна кислота	1,6 ± 0,3	3,1 ± 0,5*	1,3 ± 0,1	1,6 ± 0,2 [#]
ФХ/ФЕ	1,2 ± 0,1	1,05 ± 0,05	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,1
ФХ/СФМ	9,0 ± 0,4	11,1 ± 0,7*	9,8 ± 0,5	12,1 ± 0,6*

Змінюється у СМ за нестачі кисню і відносний вміст окремих ФЛ. Так, у шурів обох вікових груп на фоні стабільного рівня і співвідношення основних представників мембранних ФЛ (ФХ та фосфатиділетаноаміди — ФЕ) зменшується вміст сфінгомелінів (СФМ) (у дорослих — на 26 %, у старих — на 21 %), що призводить до зростання у старих шурів співвідношення ФХ/СФМ, а відтак сприятиме зниженню мікрів'язкості ліпідного бішару СМ. Останнє можна вважати функціонально доцільним, особливо у старих тварин. У той же час, падіння на 22 % вмісту фосфатиділсеринів та фосфатоділінозитолів (ФС та ФІ) в СМ мозку старих шурів за цих умов (у дорослих він залишається незмінним) сприятиме зростанню мікрів'язкості, що певною мірою має стримувати активацію ПОЛ, але може призвести до падіння активності

Na, K-АТФази, зниження чутливості до аллостеричних регуляторів і позначитись на транспорті іонів. Це підтверджується результатами досліджень інших авторів [18]. Так, в досліджах на дорослих щурах показано, що зменшення відносного вмісту ФС+ФІ супроводжується зростанням мікрров'язкості, зниженням антиоксидантної активності ліпідного матриксу СМ, але, навпаки, уведення антиоксидантів призводить до зростання рівня ФС [1].

Різностямованими і не менш функціонально важливими є зміни під дією гіпоксії вмісту мінорного ФЛ кардіоліпіну і продуктів гідролізу деградації ФХ. Так, у СМ мозку дорослих щурів знижується вміст кардіоліпінів (на 50 %), зростає вміст лФХ (на 72 %) і фосфатидної кислоти (ФК, на 94 %). У старих щурів за цих умов вміст кардіоліпінів, навпаки, зростає (на 37 %), а вміст лФХ і ФК не зазнає змін. При цьому рівень лФХ не відрізняється від такого у дослідних дорослих, а ФК майже у 2 рази нижчий. Слід брати до уваги, що ФК є іонофором Ca^{2+} і утворюється за фосфоліпідного гідролізу специфічними фосфоліпазами D , C і A_2 , які можуть активуватися одночасно або послідовно. Збільшення вмісту ФК в СМ дорослих дослідних щурів при дії гіпоксії може свідчити про активацію процесів трансмембранної передачі хімічних сигналів.

Аналізуючи отримані результати щодо змін окремих ФЛ та їх метаболітів в СМ нейронів головного мозку щурів за дії гіпоксії (з урахуванням даних літератури із цього приводу), можна уявити наступний ланцюг подій. Дорослі щури: зменшення вмісту кардіоліпінів (КЛ) → зниження зв'язування Ca^{2+} → збільшення надходження Ca^{2+} зовні → активація ФЛ-ази A_2 → посилення гідролізу ФХ → збільшення вмісту лФХ та ФК [7]. Старі щури: збільшення вмісту КЛ → посилення зв'язування Ca^{2+} СМ → зменшення надходження Ca^{2+} зовні → відсутність активації фосфоліпази A_2 → стабільність продуктів фосфоліпідного гідролізу.

Зростання вмісту продуктів гідролізу ФХ за умов гіпоксії в СМ мозку дорослих щурів має супроводжуватись відповідним збільшенням вмісту вільних ПНЖК. Це підтверджується даними [20], згідно з якими, за дефіциту кисню вміст вільних ПНЖК у головному мозку дорослих щурів зростає майже у 3 рази, у старих — лише у 2 рази. Згідно з одержаними даними, за відсутності активації гідролізу ФЛ у старих дослідних щурів джерелом вільних ПНЖК можуть бути ефіри ХС і триацилгліцеролу, в яких відбувається відщеплення і вивільнення ЖК, насамперед арахідонової кислоти [8]. Наслідком цих процесів буде активація як ВРОЛ (про що свідчить встановлене збільшення вмісту гептанрозчинних ТК в СМ мозку тварин обох вікових груп, причому більш значне у дослідних дорослих), так і біосинтезу ейкозаноїдів за участю ліпо- і циклооксигеназ [8]. Є дані щодо утворення простагландинів E 2α і E 2 у дорослих щурів за умов гіпоксії [6].

Таким чином, одержані результати свідчать про більш високу активність процесів пероксидації компонентів ліпідного матриксу СМ нейронів кори головного мозку у старих щурів вже за умов фізіологічного спокою. Інтенсифікації ПОЛ у них сприяє як посилення фос-

фоліпідного гідролізу з утворенням великої кількості вільних ПНЖК (субстратів ПОЛ і оксигеназних реакцій), так і відносна недостатність ферментів першої лінії антиоксидантного захисту та глутатіонової системи; як наслідок — накопичення в СМ карбонільних сполук і флуоресцируючих продуктів. Ремодельовання ліпідного бішару СМ при старінні, що супроводжується зменшенням мембранного пулу ПНЖК, неспроможне запобігти переокисній трансформації ЖК-ланцюгів ФЛ внаслідок недостатності безпосереднього захисту ПНЖК з боку гідрофобних антиоксидантів. Все це не може не впливати на функціонування транспортної Na^+ , K^+ -АТРази, підтвердженням чого є результати попередніх досліджень [14–16].

Під впливом гострої гіпоксії процеси пероксидації ліпідів СМ активуються у щурів обох вікових груп. Це вказує на розвиток у них ОС, який має чіткі вікові відмінності. У дорослих дослідних щурів переокисній трансформації підпадають лише вільні ПНЖК як результат різкого зростання ФЛ-гідролізу, що призводить до стрімкої активації переокисних процесів і особливо цикло- і ліпооксигеназних реакцій з посиленням утворенням великої кількості метаболітів ВРОЛ і ейкозаноїдів. Кінцевий ефект названих біологічно активних сполук залежить від співвідношення окремих, фізіологічно дуже неоднорідних представників.

В мозку старих щурів при дії гіпоксії теж відбувається інтенсифікація вільно-радикального окиснення вільних ПНЖК, хоча значно меншою мірою (за відсутності активації деацильовання ФЛ); проте загальний вміст продуктів ВРОЛ у СМ значно перевищує такий у дорослих. До того ж, у них істотно активується переокисна трансформація ПНЖК-ланцюгів у складі мембранних ФЛ. Це заслуговує особливої уваги, оскільки утворення переокисів ФЛ в СМ супроводжується їх молекулярною дезорганізацією, призводить до зниження плинності ліпідного матриксу за рахунок появи в ЖК-ланцюгах гідропереокисових, карбонільних та інших сполук, збільшенню гідрофільних кластерів, зростанню проникності СМ для іонів, метаболітів та інших речовин, призводить до подальшого порушення функцій синаптичного компартменту нейронів мозку старих щурів. Крім того, наслідком молекулярної дезорганізації може бути майже повна втрата ЖК-ланцюгами ФЛ безпосереднього їх захисту з боку гідрофобних антиоксидантів (в першу чергу — α -токоферолу). Отже, окисний стрес, який вважається адаптивною реакцією організму у відповідь на дію екстремальних чинників довкілля, у старих щурів набуває руйнівного характеру. Безперечно, така ситуація потребує корекції, антиоксидантного захисту з використанням, зокрема, природних антиоксидантів.

Список використаної літератури

1. *Бурлакова Е. Б., Хохлов А. П.* Влияние мембранотропных веществ на состав, структуру и функциональную активность мембран синаптического комплекса // Биол. мембраны. — 1984. — 1, № 2. — С. 117–121.
2. *Волчегорский И. А., Шаранов В. Ф., Василькова Ю., Попов А. Н.* Содержание продуктов липопероксидации в крови как показатель устойчивости к ин-

- фекционно-воспалительным осложнениям трансуретальной электрорезекции предстательной железы // *Клин. лабор. диагностика.* — 2002. — № 1. — С. 20–22.
3. *Дудченко А. Б., Чернобаева Г. Н., Белоусова В. В.* и др. Биоэнергетические параметры мозга крыс с разной резистентностью к гипоксии // *Бюл. эксп. биол. мед.* — 1993. — **115**, № 3. — С. 251–254.
 4. *Каган В. Е., Орлов В. Н., Прилипко Л. Л.* Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов // *Итоги науки и техники: Сер. Биофизика/ВИНИТИ.* — М., 1986. — Вып. 18. — 134 с.
 5. *Кейтс М.* Техника липидологии. — М.: Мир, 1975. — 332 с.
 6. *Комаренцева И. А., Сенчий В. Н.* Биосинтез простагландинов E_2 и $E_{2\alpha}$ в тканях легких в условиях гипоксии и гиперкапнии // *Укр. биохим. журн.* — 1998. — **70**, № 5. — С. 117–120.
 7. *Костюк П. Г., Станіка Р. І., Коваль Л. Н., Лук'янець О. О.* Внутрішньоклітинний кальцієвий гомеостаз сенсорних нейронів при гіпоксичних впливах // *Фізіол. журн.* — 2003. — **49**, № 3. — С. 3–10.
 8. *Коцюрuba А. В., Буханевич А. М., Тараканов С. С.* та ін. C_{27} -стероїдні гормони кальцітриол та ектистерон у ранній фазі дії активують у тканинах-мішенях тварин гідроліз фосфатидилхолінів // *Укр. біохім. журн.* — 1998. — **70**, № 5. — С. 37–44.
 9. *Кульчицкий О. К., Потапенко Р. І., Новикова С. М.* Вікові особливості дії стресу на склад та пероксидацію ліпідів синаптичних мембран мозку щурів // *Биол. вестник.* — 2000. — **4**, № 2. — С. 20–23.
 10. *Кульчицкий О. К., Потапенко Р. И., Новикова С. Н.* Особенности перекисного окисления липидов в тканях головного мозга и печени старых крыс при стрессе // *Укр. біохім. журн.* — 2001. — **73**, № 4. — С. 73–78.
 11. *Лебедев А. В., Афанасьев С. А., Алексеева Е. Д.* и др. Влияние возраста и ишемии на уровень липоперекисей и липидорастворимых антиоксидантов в сердце человека // *Бюл. эксп. биол. мед.* — 1995. — **119**, № 6. — С. 584–586.
 12. *Мажитова М. В., Тризно Н. Н., Теплый Д. Л.* Возрастные и половые особенности антиоксидантной защиты и свободно-радикальных процессов в мозгу белых крыс // *Успехи геронтологии.* — 2010. — **23**, № 3. — С. 396–400.
 13. *Паранич А. В., Лад С. Н., Фролова Н. А.* и др. Изучение состояния антиокислительного гомеостаза в плазме крови и лимфоцитах больных гипертонической болезнью // *Биол. вестник.* — 2000. — **4**, № 2. — С. 24–27.
 14. *Потапенко Р. И.* Влияние ацетилхолина и норадреналина на активность Na^+ , K^+ -АТФ-азы синаптических мембран головного мозга взрослых и старых крыс // *Нейрохимия.* — 1986. — **5**, № 1. — С. 57–60.
 15. *Потапенко Р. И.* Влияние вазопрессина на активность Na^+ , K^+ -АТФ-азы синаптических мембран головного мозга взрослых и старых крыс // *Вопр. мед. химии.* — 1987. — № 2. — С. 122–126.
 16. *Потапенко Р. И.* Возрастные особенности Na^+ , K^+ -АТФ-азной активности синаптических мембран головного мозга крыс // *Укр. биохим. журн.* — 1998. — **60**, № 1. — С. 61–64.
 17. *Старенне мозга /* Под ред. В. В. Фролькиса. — Л.: Наука, 1991. — 277 с.
 18. *Blankman J. L., Long J. Z., Trauger S. A.* et al. ABHD12 controls brain lysophosphatidylserine pathways that are deregulated in a murine model of the neurodegenerative disease PHARC // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* — 2013. — **110**, № 4. — P. 1500–1505.
 19. *Cirotto M. R., Fiskin K., De Martino F.* et al. Age-related changes in Cu, Zn superoxide dismutase, Se-dependent and -independent glutathione peroxidase and catalase activities in specific areas of rat brain // *Mech. Aging. Dev.* — 1991. — **61**, № 3. — P. 287–297.

20. *De Medio G. E., Gaiti A.* Effect of ishemsa on cerebral phospholipia metabolism in aged rats // *Ital. J. Dichtv.* — 1986. — **35**, № 2. — P. 127–128.
21. *Floyd E. A., Zaleska M. M., Harmon H. J.* Possible involvement of iron and oxygen free radicals in aspects of aging in drain // *Meet. "Free Radic. Mol. Biol., Aging and Disease"*. — New York, 1984. — P. 143–161.
22. *Hawkes C. A., Gatherer M., Sharp M. M.* et al. Regional differences in the morphological and functional effects of aging on cerebral basement membranes and perivascular drainage of amyloid- β from the mouse brain // *Aging Cell.* — 2013. — **12**, № 2. — P. 224–236.
23. *Markwell M. A., Haas S. M., Riber L. L., Tobert N. E.* Modification of Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples // *Anal. Biochem.* — 1978. — **87**, № 1. — P. 206–210.
24. *Moesgaard B., Petersen G., Jaroszewski J., Hansen H.* Age dependent of N-acyl-ethanolamine phospholipids in ischemic rat brain: a ^{31}P NMR and enzyme activity study // *J. Lipid Reseach.* — 2000. — **41**. — P. 985–990.
25. *Ovsepiyan L. M., Kazarian G. S., Akopdzhanian A. A., Lvov M. V.* Age-dependent changes in phospholipid content and neutral lipid contents in aging // *Adv. Gerontol.* — 2012. — **25**, № 2. — P. 250–254.
26. *Svanborg A., Svenerholm L.* Plasma lipids, cholesterol, phospholipids and fatty acids in healthy Scandinavian population // *Acta Med. Scand.* — 1961. — **109**, № 1. — P. 43–49.
27. *Viani P., Cervato G., Fiorilli A., Cestaro B.* Age-related differences in synaptosomal peroxidative damage and membrane properties // *Neurochem.* — 1991. — **56**, № 1. — P. 253–258.

Надійшла 17.07.2013

**ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ
АКТИВНОСТИ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОГО
ОКИСЛЕНИЯ И СОСТАВА ЛИПИДНОГО МАТРИКСА
СИНАПТИЧЕСКИХ МЕМБРАН НЕЙРОНОВ
ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС
ПРИ ОСТРОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ**

О. К. Кульчицкий, Р. И. Потапенко, С. Н. Новикова

Государственное учреждение "Институт геронтологии
им. Д. Ф. Чеботарева НАМН Украины", 04114 Киев

Установлено, что в синаптических мембранах (СМ) полушарий головного мозга 28–30-месячных (старых) нелинейных крыс-самцов по сравнению с 8-месячными (взрослыми) активируются процессы свободно-радикального окисления липидов (СРОЛ), о чем свидетельствует возрастание содержания метаболитов окисной трансформации как свободных полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), так и ПНЖК-цепей в составе мембранных фосфолипидов (ФЛ). Интенсификации СРОЛ способствует активация гидролиза ФЛ усиленным образованием как лизофосфатидилхолинов, так и свободных ПНЖК. Активация СРОЛ ЖК-цепей ФЛ происходит вопреки уменьшению количества ПНЖК в их составе. Свидетельством последнего является уменьшение пула изо-

пропанол-растворимых соединений с изолированными двойными связями. При действии острой гипоксии СРОЛ активируется в СМ нейронов мозга крыс обеих возрастных групп. В СМ мозга взрослых крыс перекислению поддаются только свободные ПНЖК, а у старых наблюдается дальнейшее возрастание перекиссации ЖК-цепей непосредственно в составе мембранных ФЛ, что сопровождается их накоплением. Последнее ведет к молекулярной дезорганизации липидного матрикса СМ нейронов, нарушениям функционирования мембраносвязанных ферментов, рецепторов, вторичных мессенджеров и к нарушению функций синапсов.

**CHANGES IN THE ACTIVITY OF FREE RADICAL
OXIDATION AND CONTENT OF LIPID MATRIX
OF SYNAPTIC MEMBRANES OF NEURONS OF THE RAT
CEREBRAL HEMISPHERES IN ACUTE HYPOBARIC
HYPOXIA: AGE PECULIARITIES**

O. K. Kulchitsky, R. I. Potapenko, S. N. Novikova

State Institution "D. F. Chebotarev Institute of Gerontology
NAMS Ukraine", 04114 Kyiv

The processes of free radical oxidation of lipids (FROL) were found to be activated in the synaptic membranes (SM) of cerebral hemispheres of 28–30-month (old) vs. 8-month (adult) male rats. This is evidenced by an increase in the content of metabolites of oxidative transformation of both free polyunsaturated fatty acids (PUFA) and PUFA-chains in the membrane phospholipids (PL). FROL intensification is facilitated by the activation of PL hydrolysis through active formation of both lysophosphatidyl cholines and free PUFA. FROL activation of PL's fatty acids chains occurred despite a decrease of PUFA in their content. The latter is demonstrated by a decrease of the pool of isopropanol-soluble compounds with isolated double links. Acute hypoxia induced FROL activation in the brain neuronal SM of rats of both age groups. Only free PUFA come under peroxidation in the SM of adult rat brain vs. further increase of peroxidation of fatty acids chains directly in the composition of membrane's PL of old rats. This is accompanied by their accumulation, resulting in molecular disorganization of the lipid matrix of neuronal SM, disturbances in the function of membrane-binding enzymes, receptors, second messengers, as well as to dysfunction of synapses.

Відомості про авторів

Лабораторія регуляції метаболізму

О. К. Кульчицький — керівник лабораторії, д.м.н., професор (biochem@geront.kiev.ua)

Р. І. Потапенко — провідн.н.с., к.м.н.

С. М. Новікова — провідн.н.с., д.м.н.