

# Изменение активности аспартаатаминотрансферазы в головном мозгу крыс при десинхронозе

**В.Р. Хаирова**

*Институт физиологии им. академика Абдуллы Караева НАН Азербайджана, Баку;  
e-mail: venerakhairova@yahoo.com*

*На модели искусственного десинхроноза изучали активность фермента аспартаатаминотрансферазы (АсАт) в митохондриальной фракции структур головного мозга трехмесячных крыс-самцов линии Вистар массой 280–300 г с учетом их морфофункциональных особенностей. Экспериментальную модель десинхроноза создавали содержанием животных в условиях круглосуточного светового и темного режима на протяжении 20 дней. Содержание животных в условиях темного режима приводит к активации АсАт в ткани и митохондриальной фракции всех исследуемых структур мозга, в наибольшей степени в гипоталамусе (92 и 84% соответственно относительно контроля). Световой режим также способствовал возрастанию активности во всех структурах, особенно в гипоталамусе (105 и 116% соответственно относительно контроля). Активацию фермента во всех структурах мозга можно рассматривать как защитно-компенсаторный механизм поддержания определенного уровня белково-энергетического метаболизма в нервной ткани, а также сохранения структурной пластичности нейронов за счет реакции переаминирования.*

*Ключевые слова: десинхроноз; аспартаатаминотрансфераза; митохондриальная фракция; переаминирование.*

## ВВЕДЕНИЕ

Биологические ритмы – заложенное природой свойство живых организмов адаптироваться к циклически меняющимся условиям внешней среды. В их основе лежит изменение метаболизма биологических систем, обусловленное влиянием внешних и внутренних факторов, так называемых «синхронизаторов» или «датчиков времени». К внутренним факторам относятся нейрогуморальные процессы, протекающие в определенном, генетически закрепленном темпе и ритме. Главным внешним синхронизатором ритма является фотопериодизм [1–3].

В результате ускорения темпов развития современного общества, проявления стрессующих факторов как в дневное, так и в ночное время, сменной работы, частых перелетов, природных катаклизмов и т. д.

наступает десинхронизация циркадных ритмов организма, что приводит к развитию патологических состояний – десинхронозов, ряду заболеваний и быстрому старению [4–6]. А поскольку одним из главных признаков старения организма является именно снижение способности противостоять негативным внешним влияниям, выдвинуто предположение, что нарушение суточных биоритмов организма – хронологический маркер старения [7–9].

Универсальным механизмом приспособления нервной системы к условиям внешней среды является перестройка обмена веществ и энергии на клеточном уровне. Пластические свойства головного мозга, основанные на функциональной пластичности метаболизма и реализуемые на внутриклеточном уровне, проявляются при изменении эндо- и экзогенной среды организма, в условиях вынужденной адап-

тации [10–12]. Важное значение при этом имеют аминокислоты-нейромедиаторы (в частности, глутаминовая и аспарагиновая кислоты) и их ферментные системы, особо чувствительные к различным изменениям факторов окружающей среды.

Ключевое звено белково-энергетического и нейромедиаторного метаболизма – переаминирование, катализируемое ферментами трансаминазной группы [13, 14]. Аспаргатаминотрансфераза (АсАт) – фермент, катализирующий переаминирование глутамата со щавелевоуксусной кислотой, – является одной из основных трансаминаз головного мозга. Чаще всего в реакциях трансаминарования участвуют аминокислоты, содержание которых в тканях значительно выше остальных – глутамат, аланин, аспарат. Известен трансаминазный генез глутаминовой кислоты, а также, что 90% ее окисляется в митохондриях мозга с высвобождением аспартата. Глутамат играет особую роль во взаимосвязи пластического и энергетического обмена, о чем свидетельствует как локализация значительных количеств глутаминовой кислоты в митохондриях, так и высокая их способность окислять и воспроизводить глутамат [15]. Так как в тканях содержание аспарагиновой кислоты намного меньше, чем глутаминовой, то реакция переаминирования глутамата с оксалоацетатом протекает предпочтительнее в сторону образования аспартата; в изолированных митохондриях также конечным продуктом окисления глутамата является аспарагиновая кислота [16, 17]. Кроме выполнения нейромедиаторной функции, свободные аминокислоты, окисляясь в митохондриях через стадию образования  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты с выходом энергии в виде АТФ, обеспечивают поддержание энергетического обмена [18].

Целью нашей работы было определение активности фермента АсАт в головном мозгу крыс на модели искусственного десинхроноза.

## МЕТОДИКА

Все процедуры с животными выполняли согласно международным правилам и нормам (European Communities Council Directives of 24 November 1986, 86/609/ЕЕС). Исследования проводили на половозрелых крысах-самцах линии Вистар 3-месячного возраста, содержащихся в стандартных условиях вивария на обычном рационе со свободным доступом к воде и пище. Все животные были разделены на 3 группы. Крысы, находившиеся в естественных условиях освещения, вошли в 1-ю контрольную группу; во 2-ю и 3-ю – крысы с искусственно сформированным экспериментальным десинхронозом в виде круглосуточного освещения и темноты соответственно. Животные 2-й группы содержались днем при естественном солнечном свете, ночью – электрическом. Крысы 3-й группы лишали внешнего источника света. Все работы (наблюдение, кормление, уборка клеток и т. д.) проводили при красном свете. Как световую, так и темновую депривации поддерживали на протяжении 20 дней. Из эксперимента животных выводили на 21-е сутки под наркозом (тиопентал натрия) согласно условиям эвтаназии и общим этическим принципам проведения экспериментов.

Для биохимических целей были использованы образцы ткани (гомогенат) и митохондриальной фракции 3 структур головного мозга крыс – коры больших полушарий, мозжечка и гипоталамуса. Митохондриальная фракция была выделена методом дифференциального центрифугирования [19]. Активность фермента АсАт определяли кинетическим методом с помощью набора реактивов «Human» (Германия) в основе которого лежит оптический тест Варбурга. Статистическую обработку полученных результатов проводили на основе пакета программ StatSoft Statistica 6.0 (непараметрические критерии Манна – Уитни, Вилкоксона).

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Согласно полученным результатам (таблица), содержание животных в условиях темнового режима приводит к активации АсАт в ткани всех исследуемых структур мозга, в наибольшей степени выраженной в гипоталамусе. Так, процентное повышение активности в коре составляет 59%, в мозжечке – 54% ( $P < 0,01$ ) и в гипоталамусе – 92% ( $P < 0,001$ ) относительно контрольных значений. Постоянная световая импульсация также вызывала активацию фермента во всех структурах мозга: в коре – 50%, мозжечке – 42% ( $P < 0,01$ ) и гипоталамусе – 105% ( $P < 0,001$ ) относительно контроля. Потребность в глутамате в данной ситуации значительно возрастает. В энергетическом аспекте глутаминовая кислота проявляет своеобразное адаптогенное свойство и способна превращаться в незаменимую кислоту триптофан – основной источник синтеза мелатонина [17, 18]. Реакция переаминирования, катализируемая ферментами трансаминазной группы (в частности, АсАт), обеспечивает метаболизм отдельных аминокислот в организме (глутамат, аспарат), используемых в качестве энергетических субстратов, а также для синаптической передачи возбуждения.

Способность организма противостоять стресс-факторам лимитирована, прежде всего, энергетическими возможностями нервных клеток. Помимо глюкозы, поставщиками

энергии для головного мозга являются глутамат и аспарат. Если организм оказывается в экстремальном состоянии потребность мозга в кислороде значительно повышается. При этом срабатывает так называемый аминобутиратный шунт, в ходе которого большие количества глутаминовой кислоты превращаются в  $\gamma$ -аминомасляную кислоту, которая окисляясь в митохондриях нервных клеток, обеспечивает их необходимой энергией.

Можно предположить, что при пограничных состояниях организма подъем ферментативной активности, характеризующийся различной степенью выраженности в структурах головного мозга, способствует запуску защитного метаболического механизма, участвующего в поддержании аминокислотно-энергетического фонда. При этом наблюдается высокое содержание глутаминовой и аспарагиновой кислот, которые, являясь субстратами аминотрансфераз, выполняют пластические, энергетические, интегрирующие функции в головном мозгу. В условиях разлада биоритмов нервная ткань, характеризующаяся высокой пластичностью благодаря морфофункциональным и метаболическим особенностям, а также обладающая компенсаторными свойствами, мобилизует возможности внутренних механизмов (активация ферментных систем, переключение на альтернативные пути обмена) с целью

**Изменение активности аспаратаминотрансферазы (мкмоль пирувата $\cdot$ г $^{-1}\cdot$ ч $^{-1}$ ) в ткани и митохондриальной фракции структур головного мозга 3-месячных крыс на модели десинхроноза ( $M \pm m, n = 10$ )**

Структуры головного мозга	Контроль	Темновой режим	Световой режим
ткань			
Кора	245,1 $\pm$ 12,7	389,5 $\pm$ 14,4**	368,0 $\pm$ 13,5**
Мозжечок	232,4 $\pm$ 13,5	357,8 $\pm$ 14,4**	330,0 $\pm$ 12,7**
Гипоталамус	220,4 $\pm$ 0,2	423,1 $\pm$ 14,5***	452,2 $\pm$ 15,4***
митохондриальная фракция			
Кора	210,4 $\pm$ 11,6	351,0 $\pm$ 18,4**	300,3 $\pm$ 16,2**
Мозжечок	195,7 $\pm$ 12,1	287,6 $\pm$ 15,8**	260,2 $\pm$ 14,7**
Гипоталамус	185,5 $\pm$ 13,4	341,3 $\pm$ 15,2***	400,7 $\pm$ 18,1***

\*\* $P < 0,01$ . \*\*\* $P < 0,001$  по отношению к контролю.

поддержания стабильности аминокислотного фонда и необходимых метаболических процессов в нейронах [10].

Определение активности АсАт в митохондриальном компартменте показало, что в условиях темновой адаптации резкий подъем активности отмечается в гипоталамусе – 84% ( $P < 0,001$ ), далее в коре мозга – 67% и мозжечке – 46% ( $P < 0,01$ ) в сравнении с контролем. Световой режим также способствовал возрастанию активности во всех структурах, значительно выраженное в гипоталамусе – 116% ( $P < 0,001$ ), в коре – 43% и мозжечке – 33% ( $P < 0,01$ ) относительно нормы.

Тенденция к активации энзима во всех структурах мозга, особенно в гипоталамусе, еще раз подтверждает его интегративную функцию [20]. Возможно, в нейрональной его организации заложены программы, активация которых под влиянием нервных импульсов от вышележащих отделов мозга (например, коры) и рецепторов приводит к запуску биохимических механизмов адаптации.

Активация митохондриальной формы АсАТ, вероятно, обеспечивает энергетические потребности нейронов на субклеточном уровне, выполняя компенсаторно-адаптивную роль в ЦНС. Здесь не исключено участие митохондриальной АсАТ в обеспечении цикла трикарбоновых кислот промежуточными метаболитами, в ходе превращения которых выделяется значительное количество энергии, необходимой для нормального функционирования нейронов при изменяющихся условиях. Возможен также сдвиг баланса в сторону возбуждающих нейромедиаторов (аспартат, глутамат), приводящий к подъему нейрональной активности. Также следует отметить участие митохондриальных структур в обеспечении энергетического потенциала головного мозга [21].

Таким образом, можно предположить, что каждому функциональному состоянию мозга свойственен определенный уровень метаболических процессов; кроме того, ферментативные реакции, протекающие в

клеточных структурах нейронов, способствуют ферментативной адаптации мозга и всего организма в целом.

Реакция различных структур головного мозга при различных функциональных состояниях организма, проявляющаяся в активировании или, наоборот, ингибировании ферментативных процессов на клеточном уровне, обусловлена как морфофункциональными особенностями, так и, возможно, связана с филогенетическим уровнем развития области мозга, формированием эргических систем в каждой структуре, имеющей собственные механизмы, обеспечивающие сохранение жизненно важного уровня внутриклеточного аминокислотно-энергетического и медиаторного фонда, а также структурной пластичности нейронов.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

**В.Р. Хаирова**

#### **ЗМІНА АКТИВНОСТІ АСПАРТАТАМІНОТРАНСФЕРАЗИ У ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ ПРИ ДЕСИНХРОНОЗІ**

На моделі штучного десинхронозу вивчали активність ферменту аспартатамінотрансферази (АсАт) у митохондриальній фракції структур головного мозку тримісячних щурів-самців лінії Вістар масою 280–300 г з урахуванням їх морфофункціональних особливостей. Експериментальну модель десинхронозу створювали утриманням тварин в умовах цілодобового світлового і темного режиму протягом 20 днів. Згідно з отриманими результатами, утримання тварин в умовах темного режиму призводило до активації АсАТ у тканині і митохондриальній фракції всіх досліджуваних структур мозку, особливо в гіпоталамусі (92 і 84% відповідно щодо контролю). Світловий режим також сприяв зростанню активності в усіх структурах, особливо в гіпоталамусі (105 і 116% відповідно щодо контролю). Значну активацію

ферменту в усіх структурах мозку можна розглядати як захисно-компенсаторний механізм підтримки певного рівня білково-енергетичного метаболізму в нервовій тканині, а також збереження структурної пластичності нейронів внаслідок реакції переамінування.

Ключові слова: десинхроноз; аспаратаминотрансфераза; мітохондріальна фракція; переамінування.

**V. R. Khairova**

### **CHANGE OF THE ASPARTATE AMINOTRANSFERASE ACTIVITY IN THE RAT'S BRAIN IN DESINCHRONOZE**

In the presented work on the model of artificial desynchronization, the activity of enzyme aspartate aminotransferase in the mitochondrial fraction of the brain structures was studied taking into account their morpho-functional features. The object of the study is three-month-old Wistar male rats weighing 280-300 g. The experimental model of desynchronization was created by keeping animals in conditions of a 24-hour light and dark regime for 20 days. According to the results obtained, keeping animals under dark conditions leads to the activation of AST in the tissue and mitochondrial fraction of all the studied brain structures, most pronounced in the hypothalamus (92 and 84%, respectively, relative to the control). The light regime also contributed to an increase in activity in all the structures, significantly expressed in the hypothalamus (105 and 116%, respectively, relative to the control). Significant enzyme activation in all brain structures can be considered as a protective-compensatory mechanism for maintaining a certain level of protein-energy metabolism in the nervous tissue, as well as preserving the structural plasticity of neurons due to the transamination reaction.

Key words: desynchronization, aspartate aminotransferase, mitochondrial fraction, transamination.

*Institute of Physiology n.a. academician Abdulla Garayev, NAS of Azerbaijan, Baku; e-mail: venerakhairova@yahoo.com*

### **REFERENCES**

1. Reddy AB, Rey G. Metabolic and nontranscriptional circadian clocks: eukaryotes. *Annu Rev Biochem.* 2014;83:165-89.
2. Takahashi JS. Molecular components of the circadian clock in mammals. *Diabetes Obes Metab.* 2015;17:6-11.
3. Paschos GK, FitzGerald GA. Circadian clocks and metabolism: Implications for microbiome and aging. *Trends Genet.* 2017; 33(10):760-69.
4. Osikov MV, Ogneva OI, Gizinger OA, et al. Ethological

status and cognitive function in experimental desynchronization in conditions of LED lighting. *Fund Res.* 2015;1-7:1392-96. [Russian].

5. Frolov VA, Chibisov SM, Halberg F. Biological rhythms, ecology and stress. *Vest RUDN Series Med.* 2008;4:46-55. [Russian].
6. Bechtold DA. Circadian dysfunction in disease. *Trends Pharm Sci.* 2010; 31:191-98.
7. Gostyukhina AA. The level of stress in rats after a light or dark deprivation and physical exhaustion. *Neurosci for Med and Psychol: materials XIII Inter Interdisciplinary Congr. Sudak.* 2017;132-33.
8. Zaripov AA. Modern ideas about desynchronization. *Modern Probl Sci and Educat.* 2015;3:25-29. [Russian].
9. Zhurkin KI, Zlobina OV, Ivanov AN, Bugayeva IO. Changes in microcirculation and hemocoagulation in experimental light desynchronization. *Thrombosis, Hemostasis and Rheology.* 2016;3(67):164-6. [Russian].
10. Kotlyar BI. Plasticity of the nervous system. *Moscow.* 1986;240. [Russian].
11. Kulchitsky VA, Antipenko AA, Pashkevich SG, Chichkan DN, Pesotskaya YaA. The problem of plasticity in the neuronal networks of the brain stem in health and pathology. *Sci and Innovat.* 2005;9:35-41. [Russian].
12. Skrebetskii VG, Shtark MB. The fundamentals of neuronal plasticity. *Annals Russ Acad Med Sci.* 2012;9:39-44. [Russian].
13. Toney MD. Controlling reaction specificity in pyridoxal phosphate enzymes. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1814(11):1407-18.
14. Eliot AC, Kirsch JF. Pyridoxal phosphate enzymes: Mechanistic, structural, and evolutionary considerations. *Annu Rev Biochem.* 2004;73:383-415.
15. Mattson MP. Glutamate and neurotrophic factors in neuronal plasticity and disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1144(1):97-112.
16. Kanunnikova NP, Balash ZI. The metabolism of glutamate in the brain and its changes in neurodegenerative diseases. *J Grodno State University.* 2009;3(87):151-7. [Russian].
17. Vaquero J. The brain glutamate system in liver failure. *J Neurochem.* 2006;98:661-9.
18. Kulinsky VI. Neurotransmitters and the brain. *Soros Educat J.* 2001;7(6):11-16. [Russian].
19. Chinopoulos C, Zhang SF, Thomas B, Ten V, Storkov AA. Isolation and functional assessment of mitochondria from small amounts of mouse brain tiss. *Methods Mol Biol.* 2011;793:311-24.
20. Bykov YuN. Integrative brain activity in health and disease. *Neurol Herald.* 2001;1-2:75-81. [Russian].
21. Cheng A, Hou Y, Mattson MP. Mitochondria and neuroplasticity. *ASN Neuro.* 2010;2(5):e00045.

*Матеріал поступил в редакцію 26.02.2019*