

ДЫХАНИЕ МИТОХОНДРИЙ И НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГЛИКОЛИЗА ГОЛОВНОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ ЕГО ЧАСТИЧНОЙ ИШЕМИИ

Максимович Н. Е. (mne@grsmu.by), Милош Т. С. (milashts@mail.ru),
Ермак В. В. (marus.vas.mar@mail.ru), Троян Э. И. (troyan@mail.ru),
Дремза И. К. (idremza@rambler.ru)

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

Введение. Выяснение изменений биоэнергетики нейронов при частичной ишемии головного мозга (ЧИГМ) является важным для поиска новых способов корригирования данной патологии.

Цель работы – изучить изменение митохондриального дыхания (МД) и активности анаэробного гликолиза в гомогенатах головного мозга крыс с частичной ишемией.

Материал и методы. В экспериментах на 19 белых крысах-самках изучена динамика изменений МД головного мозга через 1 час и трое суток ЧИГМ полярографическим методом с использованием сукцината или смеси L-малата/L-глутамата и АДФ в качестве субстратов дыхания. Активность анаэробного гликолиза изучена по изменению концентрации лактата и пирувата в плазме крови и гомогенате мозга.

Результаты. Установлено угнетение МД мозга крыс на фоне возрастания уровней лактата в плазме крови и гомогенате головного мозга, более выраженное через 1 час ЧИГМ в плазме крови и спустя 3 часа ишемии – в гомогенате головного мозга и пирувата в плазме крови – спустя 1 ч ЧИГМ.

Выводы. Частичная церебральная ишемия крыс, моделируемая лигированием правой общей сонной артерии, приводит к заметному снижению респираторной активности митохондрий гомогената головного мозга и к разобщению окислительного фосфорилирования в митохондриях, что усугубляет дефицит энергии нейронов, вызванный нарушением транспорта кислорода кровью.

Поиск эффективных методов коррекции энергетических процессов в митохондриях головного мозга является одним из ключевых направлений патогенетической терапии церебральной ишемии.

Частичная церебральная ишемия может представлять интерес у исследователей при использовании в качестве экспериментальной модели для скрининга средств фармакологической коррекции нарушений митохондриального дыхания в головном мозге при изучаемой патологии.

Ключевые слова: головной мозг, частичная ишемия, дыхание митохондрий, гликолиз.

Введение

Не вызывает сомнений актуальность и социальная значимость проблемы цереброваскулярных заболеваний ишемического генеза, являясь следствием первичной заболеваемости. Ишемический инсульт (ИИ) занимает в мире третье место среди причин смертности и первое место в инвалидизации населения. Заболеваемость ИИ в разных странах колеблется в пределах 140-74 случая на 100 тысяч населения [1], в Беларуси – 296 случаев на 100 тысяч населения [2], что в 2-2,5 раза выше, чем в европейских странах. Смертность в РБ от инфаркта мозга среди лиц трудоспособного возраста на 100 тысяч населения составляет 25,1% [3], в России она в 3-8 раз выше, чем в США, Франции, Швейцарии и занимает второе место в мире [4].

Согласно современным представлениям, развитие церебральной ишемии является сложным патобиохимическим процессом, представляющим собой реакцию клеток головного мозга на гипоксию, последующие энергодефицит, нарушение трансмембранного транспорта потенциал-формирующих ионов, нейротрансмиттерный дисбаланс, эксайтотоксичность [5, 6, 7, 8]. Инфаркт головного мозга сопровождается нарушением синтеза белков, развитием воспаления, отека, окислительным и нитрозитивным стрессом, апоптозом.

Ранее показано участие оксида азота и его неоднозначная роль в патогенезе повреждения головного мозга при его субтотальной ишемии [8]. Морфологические исследования головного мозга

выявили у крыс с ЧИГМ изменения в виде паретического расширения сосудов и их полнокровия, стаза, сладжа эритроцитов, отечности [9].

Определяющая роль биоэнергетики нейронов в поддержании нормальной структуры и функции головного мозга, а также дефицит и противоречивость информации, касающейся изменений энергопродукции в условиях его частичной ишемии создают мотивацию для выяснения данного вопроса, что, на наш взгляд, чрезвычайно важно, так как может открыть возможности для поиска новых способов корригирования преходящих и стойких ишемических повреждений головного мозга путем воздействия на основные звенья их патогенеза.

Цель работы – изучить изменение митохондриального дыхания и активности анаэробного гликолиза в гомогенатах головного мозга крыс с частичной ишемией.

Материал и методы

Эксперименты выполнены на 19 белых беспородных крысах-самках массой 180-220 г с соблюдением принципов гуманного отношения к животным. При проведении экспериментов руководствовались всеми требованиями Хельсинкской Декларации по гуманному обращению с животными (2000 г.), Директивами Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, использующихся для научных целей [10].

Исследования выполнены на 3-х группах крыс, которые содержались в стандартных условиях вивария. У животных первых двух групп

моделировали ЧИГМ продолжительностью 1 час – группа № 1 (n=6) и 3-е суток – группа № 2 (n=6). Третью группу составляли ложнооперированные крысы – контроль (n=7). Экспериментальную модель ЧИГМ осуществляли путем перевязки правой общей сонной артерии [11]. По окончании ишемического периода у животных в условиях наркоза (внутримышечно тиопентал натрия, 60 мг/кг) проводилось взятие крови путем катетеризации общей сонной артерии, а после декапитации – забор головного мозга. Мозг извлекали «на холоду» (0-4°C), осушали фильтровальной бумагой, взвешивали и гомогенизировали в среде выделения (0,25 М сахарозы, 0,02 М трис-НСl и 0,001 М ЭДТА, рН 7,2) в соотношении 1:10, используя гомогенизатор Поттера-Эвельгейма с тефлоновым пестиком согласно модифицированному классическому методу Lai и Clark (1974) [12].

Митохондрии изолировали методом дифференциального центрифугирования при температуре 0-4°C. Скорость МД регистрировали полярографически по изменению содержания кислорода в суспензии митохондрий с помощью платиново-серебряного электрода Кларка, встроенного в термостатируемую герметичную полярографическую ячейку объемом 1,75 мл, при 27°C [13]. Активацию МД осуществляли введением субстратов сукцинат (5 mM) или L-малат/L-глутамат (2 и 5mM). После этого в ячейку добавляли аденозиндифосфат (АДФ), изучали АДФ-стимулированное дыхание (200 μM).

По полярограммам рассчитывали скорость МД в разных метаболических состояниях: V1 – скорость эндогенного (базального) дыхания, V2 – скорость субстрат-зависимого дыхания, V3 – скорость дыхания, сопряженного с фосфорилированием (после внесения АДФ), V4 – скорость дыхания после расходования внесенного АДФ (рисунок).

Определяли коэффициенты, характеризующие МД: коэффициент акцепторного контроля (AK=V3/V2), коэффициент дыхательного контроля (DK=V3/V4) и сопряжения процессов окисления и фосфорилирования – коэффициент фосфорилирования (АДФ/О) [13].

Активность гликолиза оценивали по уровню лактата [14] и пирувата [15] в 20% хлорнокислых гомогенатах головного мозга с помощью ферментативных методов по регистрации восстановленной или окисленной формы НАД+ при длине волны 340 нм на спектрофотометре «Specord UV-VIS» [16].

Статистическую обработку данных проводили непараметрическими методами с использованием программы «Statistica 10». Оценку статистической значимости различий осуществляли с помощью критериев Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при p<0,05.

Результаты и обсуждение

В группе животных с ЧИГМ продолжительностью 1 час выявлено значительное снижение

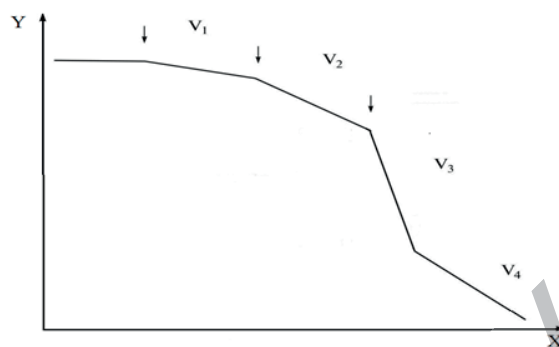


Рисунок. – Кривая поглощения кислорода изолированными митохондриями мозга крысы

Примечание: по оси Y – скорости дыхания митохондрий в разных метаболических состояниях (нз ат. О₂/мин/мг/белка); по оси X – стрелками слева направо обозначены: внесение в ячейку митохондрий и начало регистрации эндогенного (базального) дыхания (V1) и дыхания после внесения в ячейку: растворов субстрата (сукцината или малата/глутамата (V2), АДФ (V3) и дыхания в условиях истощения субстратов – V4, соответственно). V1- V4 – параметры тканевого дыхания

большинства показателей МД относительно их изменения у интактных крыс. Так, после использования в качестве субстрата дыхания сукцината отмечено падение V1 – на 17,6% (p<0,05), V2 – на 31,7% (p<0,05), V3 – на 41,7% (p<0,05), V4 – на 27,2% (p<0,05), составив при этом 82,4, 68,3, 58,3 и 72,8%, соответственно, от значений в контрольной группе (табл. 1).

Отмечалось снижение коэффициентов: дыхательного контроля (V3/V4) – в 1,35 раза (на 25,7%, p<0,05) и фосфорилирования (АДФ/О) – в 1,56 раза (на 35,7%, p<0,05).

У крыс с ЧИГМ продолжительностью трое суток также отмечалось снижение активности МД по сравнению с его активностью в контрольной группе: V2 – на 17,4% (p<0,05), V3 – на 25,6% (p<0,05), V4 – на 18,5% (p<0,05) и тенденцией к снижению V1 – на 13,4% (p>0,05). Произошло уменьшение коэффициентов V3/V2 – на 10,3%, или в 1,11 раза (p<0,05), V3/V4 – на 18%, или в 1,22 раза (p<0,05) и АДФ/О – на 38,1%, или в 1,62 раза (p<0,05), что в целом свидетельствует о разобщении процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях.

Характерно то, что снижение параметров МД головного мозга у крыс с ЧИГМ на протяжении трех суток было менее выраженным по сравнению с одночасовой ЧИГМ, что, вероятно, обусловлено включением механизмов компенсации и адаптации, в том числе коллатерального кровообращения.

После добавления к митохондриям НАД+-зависимых субстратов – смеси малата/глутамата – у крыс с ЧИГМ в течение 1 часа также выявлены изменения респираторной активности головного мозга (табл. 1): со снижением V2 – на 30,2% (p<0,05), V3 – на 40,7% (p<0,05), V4 – на 28,9% (p<0,05), составивших 90, 70, 60 и 72%, соответственно, от значений в контрольной группе и тенденцией к снижению V1 – на 9,9% (p>0,05).

При этом отмечалось уменьшение коэффициента дыхательного контроля (V3/V4) – в 1,12

Таблица 1. – Изменение скоростей потребления кислорода митохондриями головного мозга крыс и коэффициентов АК, ДК, АДФ/О после частичной ишемии головного мозга (ЧИГМ) разной продолжительности

Показатели/ единицы	субстрат	Группы животных		
		контроль	ЧИГМ 1 час	ЧИГМ 3-е суток
V ₁ (нг ат. O ₂ /мин/мг /белка)	сукцинат	14,2 (13,8; 16,0)	11,7* (9,2; 14,6)	12,3 (9,2; 14,6)
	малат/ глутамат	15,2 (14,3; 15,9)	13,7 (11,2; 16,6)	14,3 (10,2; 15,6)
V ₂ (нг ат. O ₂ /мин/мг /белка)	сукцинат	28,1 (25,8; 30,9)	19,2* (13,7; 30,4)	23,2* (20,9; 26,2)
	малат/ глутамат	29,1 (26,8; 31,9)	20,3* (14,7; 31,5)	24,2* (22,9; 28,2)
V ₃ (нг ат. O ₂ /мин/мг /белка)	сукцинат	41,0 (34,5; 42,6)	23,9* (22,4; 27,3)	30,5* (21,2; 34,0)
	малат/ глутамат	42,0 (36,5; 44,8)	24,9* (22,6; 28,3)	32,5* (23,2; 36,0)
V ₄ (нг ат. O ₂ /мин/мг /белка)	сукцинат	24,3 (22,9; 25,5)	17,7* (13,8; 21,4)	19,8* (20,0; 25,2)
	малат/ глутамат	26,3 (23,9; 27,5)	18,7* (14,8; 20,4)	20,3* (21,0; 26,2)
АК	сукцинат	1,46 (1,32; 1,54)	1,24 (1,22; 1,43)	1,31* (1,12; 1,36)
	малат/ глутамат	1,44 (1,32; 1,52)	1,22 (1,02; 1,37)	1,34* (1,12; 1,56)
ДК	сукцинат	1,67 (1,32; 2,1)	1,24* (1,24; 1,36)	1,37* (1,24; 1,52)
	малат/ глутамат	1,49 (1,32; 1,72)	1,33* (1,20; 1,46)	1,11* (1,44; 1,72)
АДФ/О	сукцинат	2,1 (1,82; 2,42)	1,35* (1,12; 1,42)	1,30* (1,10; 1,40)
	малат/ глутамат	2,40 (2,02; 2,62)	2,25* (2,02; 2,52)	1,95* (1,40; 2,32)

Примечания: данные представлены в виде медианы Me (25-й; 75-й процентилей).

* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$ – различия статистически значимы между показателями контрольной и опытных групп;

– $p < 0,05$, ## – $p < 0,001$ – различия статистически значимы между показателями опытных групп;

V1 – скорость эндогенного (базального) дыхания; V2 – скорость субстрат-зависимого дыхания; V3 – скорость дыхания, сопряженного с фосфорилированием; V4 – скорость дыхания после расходования внесенного АДФ; АК – коэффициент акцепторного контроля; ДК – коэффициент дыхательного контроля; АДФ/О – коэффициент фосфорилирования

раза ($p < 0,05$) и коэффициента фосфорилирования (АДФ/О) – в 1,07 раза ($p < 0,05$), что меньше, чем у крыс с одночасовой ЧИГМ после использования сукцината.

У крыс с ЧИГМ продолжительностью трое суток после введения малата/глутамата наблюдалось снижение показателей по сравнению с ложнооперированной группой: V2 – на 16,8% (у крыс с 1 ч ЧИГМ – на 30,2%), V3 – на 22,6% (у крыс с 1 ч ЧИГМ – на 40,7%), V4 – на 22,8% (у крыс с 1 ч ЧИГМ – на 28,9%), $p < 0,05$, наряду с тенденцией к снижению скорости базального дыхания (V1) – на 5,9% (у крыс с 1 ч ЧИГМ – на 9,9%), $p > 0,05$.

К тому же снижение коэффициентов митохондриального дыхания составило: V3/V2 – на 6,9%, или в 1,07 раза, $p < 0,05$; V3/V4 – на 25,5% (в 1,34 раза), $p < 0,05$ и коэффициента фосфорилирования (АДФ/О) – на 18,8% (в 1,23 раза), $p < 0,05$.

При этом уменьшение коэффициентов дыхательного контроля (V3/V4) и фосфорилирования (АДФ/О) после введения малата/глутамата было менее выражено по сравнению с использованием сукцината в качестве субстрата, что указывает на большую сопряженность процессов окисления и фосфорилирования при использовании малата/глутамата в качестве субстратов. С другой стороны, это говорит о большей уязвимости сукцинат-дегидрогеназного шунта к окислительному повреждению по сравнению с НАД⁺-зависимым и более экономном расходовании кислорода в НАД⁺-зависимом пути в условиях ишемии мозга по сравнению с сукцинат-дегидрогеназным.

В ходе изучения активности гликолиза у крыс с ЧИГМ установлено повышение уровня лактата и пирувата в плазме крови и гомогенатах головного мозга в течение обоих периодов его ишемии, в большей степени – у животных с ЧИГМ продолжительностью 1 час (табл. 2).

Таблица 2. – Содержание лактата и пирувата в плазме крови и головном мозге крыс после частичной ишемии головного мозга (ЧИГМ) разной продолжительности

Показатели	Объект исследования /единицы	Группы животных		
		контроль (n=7)	ЧИГМ 1 час (n=6)	ЧИГМ 3-е суток (n=6)
Лактат	плазма/ µM	3,7 (2,85; 4,45)	5,9* (4,2; 6,5)	4,9* (4,1; 6,25)
	мозг/ µM на 1 г ткани	1,25 (0,65; 1,75)	2,88* (2,0; 3,45)	3,65* (2,85; 4,65)
Пируват	плазма/ µM	0,09 (0,04; 1,35)	0,25* (0,18; 0,35)	0,15 (0,09; 0,23)
	мозг/ µM на 1 г ткани	1,25 (1,01; 1,59)	0,26 (0,12; 0,39)	0,20 (0,12; 0,27)

Примечание: данные представлены в виде медианы Me (25-й; 75-й процентилей).

* – $p < 0,05$ – различия статистически значимы между показателями контрольной и опытных групп;

– $p < 0,05$, ## – $p < 0,001$ – различия статистически значимы между показателями опытных групп

У крыс с одночасовой ЧИГМ отмечен рост содержания лактата в плазме крови на 59%, в церебральном гомогенате – в 1,3 раза ($p < 0,05$). При ЧИГМ продолжительностью трое суток уровень лактата в плазме крови был выше на 32,4%, в гомогенате мозга – в 2,9 раза ($p < 0,05$).

Содержание пирувата в плазме крови животных с одночасовой ЧИГМ возросло в 2,8 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой с тенденцией снижения уровня пирувата в гомогенате мозга в течение обоих периодов ишемии ($p > 0,05$). Очевидно, что активация гликолиза является отражением компенсации аэробных энергетических нарушений, развития глутаматной «эксайтотоксичности», приводя к нарушению

работы вторичных мессенджеров. Дисфункция митохондрий и развивающийся энергодефицит при ЧИГМ могут приводить к гибели нейронов по некротическому либо апоптотическому механизму, нарушению в конечном итоге функционирования мозга и жизнедеятельности целостного организма, следствием чего являются двигательные и чувствительные расстройства, дисрегуляция работы внутренних органов, а также когнитивные расстройства.

Выводы

1. Частичная ишемия головного мозга крыс, вызванная перевязкой правой общей сонной артерии, приводит к значительному снижению дыхательной активности мозга митохондрий и

разобщению окисления и фосфорилирования в митохондриях, что в свою очередь усугубляет энергетический дефицит нейронов, вызванных нарушением поставки кислорода в крови.

2. Поиск эффективных методов коррекции энергетических процессов в митохондриях головного мозга является одним из ключевых направлений патогенетической терапии ишемии головного мозга.

3. Частичная ишемия головного мозга может представлять интерес у исследователей для использования как скрининговая модель средств фармакологической коррекции митохондриальных нарушений дыхания в клетках головного мозга при его ишемии.

Литература

1. Maksimovich, Ye. N. Epidemiology of ischemic strokes in the Grodno region (Belarus) : abstract / Ye. N. Maksimovich, T. P. Pronko, N. Ye. Maksimovich // European stroke conference. – Viena, 2015. – P. 178.
2. Бова, А. А. Ишемический инсульт: стратегия ведения пациентов (соответствие рекомендаций и их реального клинического применения) / А. А. Бова, М. В. Силиванович // Военная медицина – 2015. – № 4. – С. 30-35.
3. Гусев, Е. И. Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова. – Москва : Медицина, 2001. – 327 с.
4. Максимович, Н. Е. Особенности формирования уровня оксида азота в плазме крови крыс при ишемических и реперфузионных повреждениях головного мозга / Н. Е. Максимович // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2004. – № 3. – С. 55-60.
5. Максимович, Н. Е. Современные представления о механизмах развития ишемических повреждений головного мозга и путях коррекции этой патологии / Н. Е. Максимович // Актуальные теоретические и прикладные аспекты патофизиологии : материалы респ. науч.-практ. конф. с междунар. участ., 14 мая 2010 г. – Гродно, 2010. – С. 149-157.
6. Максимович, Н. Е. Понятие о нитроксидергической системе мозга. Роль нейрональных источников / Н. Е. Максимович // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2003. – № 4. – С. 7-11.
7. Руқан, Т. А. Морфофункциональные изменения нейронов фронтальной коры головного мозга крыс в условиях его ишемии-реперфузии / Т. А. Руқан, Н. Е. Максимович, С. М. Зиматкин // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2012. – № 4. – С. 35-38.
8. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. – Санкт-Петербург : Rus-Lasa, 2012. – 50 с.
9. Hossman, K.-A. Experimental models for the investigation of brain ischemia / K.-A. Hossman // Cardiovascular Resarch. – 1998. – Vol. 39. – P. 106-120.
10. Lai, J. C. K. Preparation of synaptic and nonsynaptic mitochondria from mammalian brain / J. C. K. Lai, J. B. Clark // Methods in Enzymology. – 1979. – Vol. 55. – P. 51-60. – [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(79\)55008-3](https://doi.org/10.1016/0076-6879(79)55008-3).

11. Methoden der enzymatischen Analyse / ed. H. U. Bergmeyer. – Weinheim, 1962. – P. 134-328.
12. Methoden der enzymatischen Analyse / ed. H. U. Bergmeyer. – Weinheim, 1962. – P. 222.
13. Уильямс, Б. Методы практической биохимии / Б. Уильямс, К. Уилсон. – Москва, 1978. – С. 235-244.
14. Szydłowska, K. Calcium, ischemia and excitotoxicity / K. Szydłowska, M. Tymianski // Cell Calcium. – 2010. – Vol. 47, № 2. – P. 122-129. – doi: 10.1016/j.ceca.2010.01.003.

References

1. Maksimovich YeN, Pronko TP, Maksimovich NYe. Epidemiology of ischemic strokes in the Grodno region (Belarus). European stroke conference. Viena; 2015. p. 178.
2. Bova AA, Silivanovich MV. Ishemicheskij insult: strategija vedenija pacientov (sootvetstvie rekomendacij i ih real'nogo klinicheskogo primenenija). [Ischemic stroke: patient management strategy (compliance of recommendations with their actual clinical application)]. *Voennaja medicina* [Military medicine]. 2015;4:30-35. (Russian).
3. Gusev EI, Skvorcova VI. Ishemija golovnogogo mozga [Cerebral ischemia]. Moskva: Medicina; 2001 327 p. (Russian).
4. Maksimovich NE. Osobennosti formirovanija urovnja oksida azota v plazme krovi krysv pri ishemicheskij i reperfuzionnyh povrezhdenijah golovnogogo mozga [Peculiarities of the formation of nitric oxide level in blood plasma of rats with cerebral ischemic and reperfusion injuries]. *Regionarnoe krovoobrashhenie i mikro-cirkuljacija* [Regional circulation and microcirculation]. 2004;3(11):55-60. (Russian).
5. Maksimovich NE. Sovremennye predstavlenija o mehanizmah razvitija ishemicheskij povrezhdenij golovnogogo mozga i putjah korrekcii jetoj patologii [Modern ideas about the mechanisms of ischemic brain damage development and ways of correction of this pathology]. In: *Aktualnye teoreticheskie i prikladnye aspekty pato-fiziologii* [Actual theoretical and applied aspects of pathophysiology] : materialy respublikanskoj nauchno-prakticheskij konferencii s mezhdunarodnym uchastiem 14 maja 2010 g. Grodno: GrSMU; 2010. p. 149-157. (Russian).
6. Maksimovich NE. Ponjatje o nitroksidergicheskoj sisteme mozga. Rol nejronalnyh istochnikov [The concept of the nitroxidergic system of the brain. The role of neuronal

- sources]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of the Grodno State Medical University]. 2003; 4:7-11. (Russian).
7. Rukan TA, Maksimovich NE, Zimatkin SM. Morfofunkcionalnye izmeneniya neyronov frontalnoj kory golovnogogo mozga kryz v usloviyah ego ishemii-reperfuzii [Morphofunctional changes in the neurons of the frontal cortex of rat brain under conditions of its ischemia-reperfusion]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of the Grodno State Medical University]. 2012;4:35-38. (Russian).
 8. Direktiva 2010/63/EU Evropejskogo parlamenta i Soveta Evropejskogo Sojuzha po ohrane zhivotnyh, ispolzuemyh v nauchnyh celjah. Sankt-Peterburg: Rus-Lasa; 2012. 50 p. (Russian).
 9. Hossman K-A. Experimental models for the investigation of brain ischemia. *Cardiovascular Resarch*. 1998;39:106-120.
 10. Lai JCK, Clark JB. Preparation of synaptic and non-synaptic mitochondria from mammalian brain. *Methods in Enzymology*. 1974;60:51-60. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(79\)55008-3](https://doi.org/10.1016/0076-6879(79)55008-3).
 11. Bermeyer HU, editors. Methoden der enzymatischen Analyse. Weinheim: Verlag Chemie; 1962. p. 134-328.
 12. Bermeyer HU, editors. Methoden der enzymatischen Analyse. Weinheim: Verlag Chemie; 1962. p. 224.
 13. Uiljams B, Uilson K. Metody prakticheskoy biokhimii [Methods of practical biochemistry]. Moskva: Mir; 1978. p. 235-244. (Russian).
 14. Szydłowska K. Calcium, ischemia and excitotoxicity. *Cell Calcium*. 2010;47(2):122-129. doi: 10.1016/j.ceca.2010.01.003.

MITOCHONDRIAL RESPIRATION AND GLYCOLYSIS IN THE BRAIN HOMOGENATE UNDER CONDITIONS OF PARTIAL ISCHEMIA

Maksimovich N. Ye., Milosh T. S., Yarmak V. V., Troyan E. I., Dremza I. K.
Educational Institution «Grodno State Medical University», Belarus, Grodno

Background. Estimation of changes in neuronal bioenergetics in the brain its partial ischemia (BPI) is crucial for finding new ways of correcting brain ischemic lesions.

The aim of the study was to investigate the changes both in mitochondrial respiration (MR) and processes of anaerobic glycolysis in the rats` homogenate of the brain in terms of partial ischemia.

Material and methods. In an experiment on 19 white female rats we studied the dynamics of changes MR of the brain after 1 hour and 3 days of BPI by means of the polarographic method using succinate or L-malate/L-glutamate as well as ADP. The activity of anaerobic glycolysis was assessed with respect to the changes in the concentration of lactate and pyruvate in plasma and homogenate of the brain.

Results. We identified inhibition of the mitochondrial respiration in rat brain homogenate as well as increased level of lactate in cerebral homogenate, which was more pronounced in plasma after 1 hour of BPI compared to 3 days of BPI which was more pronounced in cerebral homogenate. The level of pyruvate was more pronounced in plasma after 1 hour of BPI compared to 3 days of BPI only.

Conclusion. Partial cerebral ischemia of the rat due to the ligation of the right common carotid artery leads to a remarkable reduction in the respiratory activity of the brain's mitochondria and to the dissociation of oxidation and phosphorylation in the mitochondria, which in turn aggravates the neuronal energy deficit induced by the disturbance of the supply of oxygen by blood.

The search for effective methods for correcting energy processes in the mitochondria of the brain is one of the key directions in the pathogenetic therapy of cerebral ischemia. Partial cerebral ischemia can be of interest to researchers for use as a model for screening the means of pharmacological correction of mitochondrial respiration disorders in brain cells during its ischemia.

Keywords: brain, partial ischemia, mitochondrial respiration, glycolysis.

Поступила: 19.05.2017

Отрецензирована: 02.06.2017