

10. Северова Н. Л. Влияние анаприлина на показатели кардиогемодинамики у больных гипертонической болезнью пожилого возраста. — Врачеб. дело, 1983, № 5, с. 26—30.
11. Токарь А. В. Артериальная гипертония и возраст. — Киев: Здоров'я, 1977.—143 с.
12. Токарь А. В., Ена Л. М., Рудая Э. С., Шмидт А. Д. Механизмы развития артериальной гипертонии в старости. — Вестн. АМН СССР, 1980, № 3, с. 57—64.
13. Фролькис В. В. Возрастные особенности регуляции гемодинамики и развитие артериальной гипертонии. — В кн.: Артериальная гипертония, коронарная недостаточность в пожилом и старческом возрасте. Киев, 1969, с. 41—55.
14. Фролькис В. В., Верхратский Н. С., Шевчук В. Г. Нервная регуляция функции сердца при старении. — Физиол. журн. СССР, 1977, 63, № 8, с. 1134—1143.
15. Фролькис В. В. Нейрогуморальные механизмы развития патологии сердечно-сосудистой системы при старении. — Вест. АМН СССР, 1980, № 3, с. 16—22.
16. Щеголева И. В. О возрастных особенностях чувствительности хеморецепторов сосудов к действию CO_2 и ацетилхолина. — В кн.: Кровообращение и старость. Киев, 1965, с. 60—62.
17. Salvetti A., Pedrinelli R., Magagna A. Influence of age and sodium intake on plasma renin activity in normal subjects. — Nephron, 1980, 26, N 4, p. 189—194.
18. Strandell T. Cardiac output in old age. — In: Gerontology in old age. — New York; London, 1976, p. 81—100.
19. Wezler K., Boger A. Die Dynamik des arteriellen Systems. Der arterielle Blutdruck und seine Komponenten. — In: Ergebnisse Physiologie. Munchen, 1939, S. 292—306.

Ин-т геронтологии
АМН СССР, Киев

Поступила 25.07.83

УДК 547.965:612.82:612.67

Г. В. Априкян, В. А. Шагинян, Г. А. Мкртчян,
Ж. А. Паронян, В. А. Кнарян, Э. С. Ахвердян

ОСОБЕННОСТИ ЗАХВАТА НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ПРЕПАРАТАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС ПРИ СТАРЕНИИ

Изучение особенностей образования, резервирования, выделения и обезвреживания нейромедиаторных аминокислот (НМА) в головном мозге при старении является одной из наиболее важных задач современной возрастной нейробиологии.

В настоящее время глутаминовой (ГК) и аспарагиновой (АК) кислотам отводится особая роль как медиаторам возбуждения, а гамма-аминомасляной (ГАМК) — как медиатору торможения. В отличие от неимедиаторных аминокислот, которые имеют один пик насыщения при высокой концентрации (10^{-3} моль/л), для НМА характерно образование двух пиков насыщения захвата: при высокой (10^{-3}) и низкой (10^{-5} моль/л) концентрациях их в среде. Образование пика насыщения поглощения при низкой концентрации является характерной особенностью НМА и обозначается как поглощение высокой степени сродства (*high affinity uptake*).

Захват НМА против концентрационного градиента с дуальным средством присущ нейронам, глионам и особенно синапсосомам. Повышенная активность нервной системы приводит к высвобождению нейромедиатора из нервных окончаний в синаптическую щель. После взаимодействия с постсинаптическими рецепторами нейромедиатор быстро обезвреживается. В этом отношении наиболее эффективным путем инактивации НМА является их обратный захват синапсосомами головного мозга.

Имеющиеся литературные данные свидетельствуют о том, что при старении наряду со значительной гибелью нейронов [14] выражено снижается количество синапсов [3], страдает синаптогенез [4], они подвергаются выраженным качественным изменениям: уменьшается их плотность и размеры синаптической щели [7]. Высказывается предположение, что утрата синапсов зависит от неспособности

пресинаптических элементов к поддержанию структурной целостности синапсом [3].

В предыдущих наших исследованиях было показано, что при старении интенсивность захвата НМА нейронами значительно понижается, тогда как глионами — не подвергается заметным сдвигам [2]. На основании полученных данных было сделано заключение, что увеличение числа глионов при старении можно объяснить как проявление компенсаторной функции организма в ответ на постепенную гибель большого количества нейронов. Следовательно, в данном случае речь идет о возрастании относительной роли глионов в процессе обезвреживания НМА.

В литературе нет сведений о процессах высвобождения НМА из клеточных популяций и синапсом мозга при старении. Результаты малочисленных исследований говорят в пользу снижения в указанном возрасте чувствительности рецепторов к НМА, в частности к ГАМК [8]. Заметно страдает и синтез НМА, что приводит к уменьшению их количества [15]. Особенности захвата НМА синапсом мозга при старении остаются недостаточно изученными [16].

Целью настоящего исследования является изучение особенностей захвата ГК, АК и ГАМК срезами коры и синапсами головного мозга взрослых и старых белых крыс.

Методика. Объектом исследований служил мозг белых крыс двух возрастных групп: взрослых (5—6 мес) и старых (24 мес). Срезы коры мозга готовили ручным способом, а синапсомы выделяли по методу Хяеша [9]. Состав среды поглощения: $\text{Na} - \text{PO}_4$ буфер, 0,1 М (рН 7,4) — 4,24 мл; NaCl , 1 М — 4,8 мл; KCl , 1 М — 0,2 мл; MgCl_2 , 0,1 М — 1 мл; глюкоза, 0,4 М — 2 мл и H_2O — 27,8 мл. В каждую пробу входило 0,9 мл среды поглощения и 0,1 мл суспензии синапсомы, содержащей 100 мкг белка или 0,01 г срезов коры и 1,85 МБк ^{14}C -ГАМК (специфическая активность 8,6 МБк/моль) или ^{14}C -ГК (специфическая активность 7,4 МБк/моль), или ^{14}C -АК (специфическая активность 5,2 МБк/моль). Инкубационная среда содержала также немеченные аминокислоты в конечной концентрации 10^{-5} моль/л и аминоксиуксусную кислоту в той же концентрации для подавления трансминирования. Пробы инкубировали при 37°C в течение 20 мин в атмосфере воздуха. После инкубации синапсомы осаждали при 2000 g 15 мин, надосадочную жидкость декантировали, осадок высушивали, солибилизовали протозолом и определяли радиоактивность в осадке и надосадочной жидкости с использованием сцинтилляционной жидкости Брэя. Использованы радиоактивная ГАМК фирмы Amersham (Великобритания), ГК и АК (ЧССР), нерадиоактивные аминокислоты и аминоксиуксусная кислота Sigma Chemical Company. Белок определяли методом Лоури [12] в модификации Хесс и Левина [11]. Поглощение аминокислот выражали в $\text{dpm}/1$ мг осадка суспензии синапсомы или 1 мг срезов деленное на $\text{dpm}/1$ мкл среды поглощения.

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования показали, что инкубация срезов коры мозга при 0°C в течение 20 мин не приводит к заметному захвату нейромедиаторной АК срезами коры мозга как у взрослых, так и старых крыс (табл. 1). Аналогичные данные нами были получены и при захвате ^{14}C -ГАМК обогащенными фракциями нейронов и глионов [2]. Однако радиоактивные ГАМК, АК и ГК захватываются при 37°C в весьма высокой степени у животных обоих возрастов. Из табл. 1 видно, что НМА накапливаются срезами мозга от 7 до 19 раз. Интенсивность захвата всех аминокислот в старческом возрасте значительно понижается. Так, для ГК она составляет 24,2 %, АК — 44,7 %, ГАМК — 24,4 %. Обнаруженные изменения, очевидно, отражают сдвиги, происходящие на уровне клеточных популяций и нервных окончаний. Исходя из результатов предыдущих наших исследований о значительном подавлении в старческом возрасте интенсивности захвата ГАМК нейронами и относительной стабильности этого процесса в глионах [2], можно допустить, что ослабление захвата НМА зачастую отражает картину, происходящую в нейронах.

В связи с изложенным интересно было изучить возрастные изменения захвата НМА синапсами мозга. Как видно из табл. 2, процесс захвата НМА синапсами мозга протекает на высоком

Табл. 1	
Аминокислота	
^{14}C -АК	бес...
^{14}C -ГК	ци...
^{14}C -ГАМК	инк...
^{14}C -АК	при...
^{14}C -ГК	20...
^{14}C -ГАМК	без...
^{14}C -АК	ци...
^{14}C -ГК	инк...
^{14}C -ГАМК	при...
^{14}C -АК	20...
^{14}C -ГК	без...
^{14}C -ГАМК	ци...
^{14}C -АК	инк...
^{14}C -ГК	при...
^{14}C -ГАМК	20...

уровне, независимо у взрослых крыс, в то же время страдает интенсивность захвата ГК, понижается на 24,2, 51, 56,5 и 56,5 % с обезвреживанием НМА в значительной мере. Результаты коррелируют с данными о снижении захвата и миелинизации при резе сравнительно миелинизации рассматриваемых компенсаторных механизмов. В этом случае должно быть повышение уровня пр...

Таблица 1. Захват нейромедиаторных аминокислот (dpm на мг среза/dpm на мкл среды) срезами коры мозга белых крыс при старении

Аминокислота	Условия эксперимента	Возраст животных		Разница по сравнению со взрослыми
		взрослые	старые	
¹⁴ C-АК	без инкубации	0,42±0,04 (12)	0,5±0,06 (12)	
	инкубация при 0 °С 20 мин	1,9±0,49 (12)	0,8±0,09 (12)	
	инкубация при 37 °С 20 мин	13,27±1,17 (11)	7,34±0,49 <i>p</i> <0,001 (12)	—44,7 %
¹⁴ C-ГК	без инкубации	0,76±0,08 (8)	0,65±0,03 (8)	
	инкубация при 37 °С 20 мин	12,02±0,76 (8)	9,1±0,84 <i>p</i> <0,05 (9)	—24,2 %
¹⁴ C-ГАМК	без инкубации	0,58±0,07 (9)	0,72±0,13 (9)	
	инкубация при 37 °С 20 мин	19,13±1,32 (7)	14,5±1,02 <i>p</i> <0,005 (8)	—24,4 %

Таблица 2. Захват нейромедиаторных аминокислот (dpm на мг осадка/ dpm на мкл среды) синаптосомами головного мозга белых крыс при старении

Аминокислота	Условия эксперимента	Возраст животных		Разница по сравнению со взрослыми
		взрослые	старые	
¹⁴ C-ГК	без инкубации	2,07±0,2 (16)	2,24±0,74 (16)	
	инкубация при 37 °С 20 мин	23,03±2,16 (16)	11,28±0,84 <i>p</i> <0,001 (16)	—51 %
¹⁴ C-АК	без инкубации	2,21±0,16 (12)	1,14±0,17 (12)	
	инкубация при 37 °С 20 мин	19,38±1,1 (12)	8,43±0,92 <i>p</i> <0,001 (12)	—56,5 %
¹⁴ C-ГАМК	без инкубации	1,66±0,12 (12)	0,89±0,13 (12)	
	инкубация при 37 °С 20 мин	16,38±1,28 (12)	7,12±0,54 <i>p</i> <0,001 (12)	—56,5 %

уровне, независимо от возраста. Этот процесс в синаптосомах мозга взрослых крыс, в отличие от срезов, происходит интенсивнее и в то же время страдает сильнее у старых животных. Так, если интенсивность захвата ГК, АК и ГАМК в срезах мозга старых животных понижается на 24,2, 44,7 и 24,4 % (табл. 1), то в синаптосомах — на 51, 56,5 и 56,5 % соответственно (табл. 2). Из табл. 2 видно, что обезвреживание НМА синаптосомами мозга через их обратный захват в значительной мере ограничивается при старении. Приведенные результаты коррелируют с полученными при работе с нейронами в отношении захвата ими ГАМК в старческом возрасте [2]. В этом разрезе сравнительно меньшая подверженность глионов возрастным изменениям рассматривается нами как проявление подключающихся компенсаторных механизмов, направленных на поддержание на должном уровне процесса обезвреживания нейромедиатора в ответ

на его ослабление в синапсоммах. Следует иметь в виду, что, несмотря на выраженное уменьшение при старении количества синапсом [3] и происходящие в синапсах качественные изменения [7], глионы продолжают сохранять потенцию к размножению. Их количество даже увеличивается [14]. Таким образом, получены новые экспериментальные данные, свидетельствующие о возрастании относительной роли глионов как модуляторов функции нейронов в старческом возрасте [2].

Нам представляется, что ослабление процесса обезвреживания НМА через их обратный захват носит частично и компенсаторный характер в ответ на уменьшение их количества в старости. Следовательно, идентичный эффект достигается уже при наличии меньшего количества нейромедиатора. Это уменьшение в процессе старения связано с ограничением способности нервных окончаний к синтезу НМА вследствие падения активности соответствующих ферментов. Для старения характерно замедление синтеза белка и ферментов [6]. В обеспечении процессов синаптической передачи важную роль играет и высвобождение нейромедиаторов нервными окончаниями в синаптическую щель. Однако этот вопрос остается еще практически неизученным. Замедление обратного захвата нейромедиаторов может иметь компенсаторное значение и в связи с затруднением их взаимодействия с рецепторами. В пользу этого соображения свидетельствуют как данные о снижении способности рецепторов к связыванию ГАМК и допамина [8], так и результаты, приведенные в табл. 1 о связывании АК срезами мозга при 0°C в старческом возрасте.

В ограничении способности синапсом к обратному захвату нейромедиаторов существенное значение могут иметь и изменения в самих мембранах [10, 13], а также ухудшение энергоснабжения транспортных процессов мозговой ткани [1, 5].

G. V. Aprikyan, V. A. Shahinyan, G. A. Mkrtchyan,
Zh. A. Paronyan, V. A. Knaryan, E. S. Akhverdyan

PECULIARITIES OF NEUROTRANSMITTER AMINO ACIDS UPTAKE BY BRAIN PREPARATIONS IN AGING ALBINO RATS

High affinity uptake of glutamic, aspartic and gamma-aminobutyric acids by brain slices and synaptosomes of adult and senile rats was studied by radioactive labelling. It is shown that intensity of making neurotransmitters harmless by brain slices and synaptosomes by means of the neurotransmitter inverse uptake decreases considerably with aging, this process being more intensive in case of synaptosomes.

Institute of Biochemistry, Academy of Sciences,
Armenian SSR, Yerevan

Список литературы

1. Априкян Г. В., Шагинян В. А. Роль глутаматдегидрогеназы в окислительном деаминации глутаминовой кислоты в мозгу и печени на разных этапах постнатального развития. — *Вопр. биохимии мозга*, 1973, 8, с. 91—105.
2. Априкян Г. В., Шагинян В. А. и др. О возможности использования обогащенных фракций клеток глии и нейронов в изучении транспорта нейротрансмиттерных аминокислот в старческом возрасте. — Там же, 1978, 13, с. 295—302.
3. Bondareff W. Synaptic atrophy in the senescent hippocampus. II. — *Mech. Age. Dev.*, 1979, 9, N 1/2, p. 163—171.
4. Cotman G. W., Scheff S. W. Compensatory synaptic growth in aged animals after neuronal death. — *Ibid.*, p. 103—117.
5. Deshmukh D. R., Patel M. S. Age dependent changes in glutamate oxidation by non-synaptic and synaptic mitochondria from rat brain. — *Ibid.*, 1980, 13, N 1, p. 75—81.
6. Ekstrom R., Daniel S. H., Richardson L., Richardson A. Changes in brain protein synthesis during the life span of male Fischer rats. — *Gerontology*, 1980, 26, N 3, p. 121—128.
7. Giuli C., Bertoni-Freddary C., Piery C. Morphometric studies on synapses of the cerebellar glomerulus; the effects of centrophenoxine treatment. — *Mech. Age. Dev.*, 1980, 14, N 3/4, p. 265—271.
8. Govani S., Memo M., Saiani L. et al. Impairment of brain neurotransmitter receptors in aged rats. — *Ibid.*, 12, N 1, p. 39—46.

9. Hajos F. An...
purity. — *Br...*
10. Hegner D. A...
ne properties
11. Hess H. H.,...
tissues. — *J.*
12. Lowry O. H.,...
the Folin ph
13. Nagy Zs. T...
Mech. Age. D
14. Peng M. T.,...
Gerontology,
15. Weill-Fugazz...
rats. — *Mech.*
16. Wheeler D. D...
tem — high a
Gerontol., 198

Ин-т биохимии А

УДК 612.67.01:[612.8.

НЕЙР

Представл...
ческих процес...
творно для по...
трионизмом ста...
ваются на ра...
до уровня цел...
тысячи фактор...
нее изученным...
установление в...
жизнедеятельно...
механизмов изм...
целом. Иными...
мов старения.

Фактически...
что в процессе...
ткани, и это с...
изменений. Важ...
ляются процесс...
рата клетки. С...
ткани состоит в...
скими свойства...
возрастом.

Существенн...

соплазматически

плазматический

турные элемент

печивает трофик

гулирует трофич

Гутманна [16] м

реторную клетку

информацию, нес

ма постсинаптич

ческого тока ве

что выше места

меньшие количес

менений в скорос

у старых и взрос

Физиол. журн., 1984,