

13. Chen M. G. Impaired Elkind recovery in hemopoietic colony forming cells of aged mice // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*—1974.—145.—P. 1181—1186.
14. Curry J. L., Trentin J. J. Hemopoietic spleen colony studies. I. Growth and differentiation // *Develop. Biol.*—1976.—15.—P. 395—413.
15. Gelfant S., Smith J. G. Aging: noncycling cells. An explanation // *Science*.—1972.—178, N 4059.—P. 357—361.
16. Harrison D. E. Do hemopoietic stem cells age? // *Monogr. Devt. Biol.*—Basel: Karger, 1984.—Vol. 17.—P. 21—41.
17. Ibrahim N. G., Lutton J. D., Levere R. D. Erythroid colony development as a function of age: the role of marrow cellular heme // *J. Gerontol.*—1983.—38, N 1.—P. 13—17.
18. Inoue T., Gonkita E. P. The influence of in vivo incubation of aged murine spleen colony-forming units on their proliferative capacity // *Mech. Ageing and Develop.*—1983.—23.—P. 177—190.
19. Makinodan T., Chang M.-P., Kinohara N. Influence of age on cellular differentiation: a T cell model // *Exp. Gerontol.*—1986.—21.—P. 241—253.
20. McKinney A. A. Effect of aging on the peripheral blood lymphocyte count // *J. Gerontol.*—1978.—33, N 2.—P. 213—216.
21. Potten C. S., Lajtha L. G. Stem cell versus stem lines // *Ann. N. Y. Acad. Sci.*—1982.—P. 49—61.
22. Takashi J., Ohmoto E., Aoyama S. et al. Monocyte chemiluminescence and macrophage precursors in the aged // *Acta Med. Okayama*.—1985.—39, N 6.—P. 447—451.
23. Tice R. R., Schneider E. L., Kram D., Thorne P. Cytokinetic analysis of the impaired proliferative response of peripheral lymphocytes from aged humans to PHA // *J. Exp. Med.*—1979.—149.—P. 1029—1041.
24. Till J. E., McCulloch E. A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells // *Radiat. Res.*—1961.—14.—P. 213—222.
25. Till J. E., McCulloch E. A., Siminovich L. A stochastic model of stem cell proliferation based on the growth of spleen colony-forming cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—1964.—51.—P. 29—36.

Ин-т геронтологии АМН СССР,
Киев

Материал поступил
в редакцию 11.06.89

УДК 577.355.332

С. В. Конев, С. Л. Аксентев, И. М. Окунь, А. А. Милютин

Структурная реорганизация синаптических мембран мозга и старение

Несмотря на многочисленность гипотез старения, их можно разделить на два крупных класса: генетически детерминированные и стохастические. Первые из них предполагают, что видовая продолжительность жизни запрограммирована в геноме, и включение определенных генов на заключительных стадиях онтогенеза приводит к гибели организма. Однако надежно идентифицировать подобные «гены смерти» до сих пор не удалось. Трудно себе представить также, чтобы естественный отбор, основное назначение которого — сохранение особи лишь до завершения репродуктивного периода, «загружался» созданием специальных механизмов терминации индивидуального развития. С такой точки зрения кажутся предпочтительными гипотезы второго класса, согласно которым видовая продолжительность жизни определяется устойчивостью ключевых функциональных систем к повреждающим факторам экзогенной или эндогенной природы. В этом случае геном контролирует лишь прочность биоконструкций в реальном масштабе времени и их надежность. В рамках таких представлений относительная роль конкретной функциональной системы в старении будет зависеть от ее значимости для жизнедеятельности, уникальности и места в иерархии регуляторных контуров организма. По всем этим признакам ЦНС вообще и синаптическая сеть головного мозга в особенности занимают особое положение, играя роль высшего командного пункта в регуляторных реак-

© С. В. КОНЕВ, С. Л. АКСЕНТЕВ, И. М. ОКУНЬ, А. А. МИЛЮТИН, 1990.

циях адаптации, интеграции
го статуса. И. П. Павлов, и
ма, впервые продемонстрир
управлении висцеральными
в старении. Естественно, ч
системе, состоящей из мно
талей, в синаптической сет
быть выше, чем в более про

Природу возрастных на
га долгое время исследовал
электрофизиологическом ур
ляли внимания таким воп
тических мембран мозга, с
нентов, характеристики кл
рецепторов. Между тем, хо
напса, а следовательно, и
проводимость, передача си
реализуются именно на ме
что в результате кооперати
способности к генерализованн
структурных состояний, ср
состава могут сопровождать
ренной организации мембр
перестройками белковых
свойств липидного бислоя
основе адаптационно-комп
ханизмов действия фарма
гериатрии.

Первые исследования
нальной организации мемб
работ Лаборатории биоф
фотобиологии АН БССР и
логии АН БССР (ныне Ин
щей статье подводятся ито
ющие подходы: энзимолог
мембраносвязанных ферме
мембранной подвижности
гации мембран, кинетики
поверхностных и скрытых
(оценка сродства рецепто
чувствительности рецептор
белка), химико-аналитиче
лотный состав).

На первом этапе рас
гомогенаты мозга и грубу
очистки и получения изол
могли бы нивелироваться
и неизбежной деструкции.
тельным тестом на структ
лостерические свойства м
которых относится ацетил
подхода была обоснована
ческих [6] мембран. В ка
использовали новокаин и
фермент через регулятор
графикам Хилла дозовых
синапсом мозга крыс, у
со зрелыми (5—6 мес) в
перативные взаимодейств
эффицент Хилла снижает
фициента от 0,77 до 0,5

циях адаптации, интеграции, поведенческой активности, метаболического статуса. И. П. Павлов, исходя из выдвинутого им принципа невризма, впервые продемонстрировал колоссальные возможности ЦНС в управлении висцеральными функциями и роль нейрональных факторов в старении. Естественно, что как и в любой сложно организованной системе, состоящей из множества сопряженно функционирующих деталей, в синаптической сети вероятность поломок (отказов) должна быть выше, чем в более простых биологических устройствах.

Природу возрастных нарушений функциональной активности мозга долгое время исследовали на морфологическом, нейрохимическом и электрофизиологическом уровнях [14, 18]. Однако практически не уделяли внимания таким вопросам, как структурная организация синаптических мембран мозга, состояние их белкового и липидного компонентов, характеристики ключевых мембраносвязанных ферментов и рецепторов. Между тем, хорошо известно, что важнейшие функции синапса, а следовательно, и синаптической сети в целом (возбудимость, проводимость, передача сигнала к нейронам, анализ и интеграция), реализуются именно на мембранном уровне. Здесь важно подчеркнуть, что в результате кооперативных свойств биологических мембран, способности к генерализованным переходам между набором дискретных структурных состояний, сравнительно небольшие сдвиги химического состава могут сопровождаться крупномасштабными изменениями внутренней организации мембраны, сопряженными с конформационными перестройками белковых макромолекул, и модификацией физических свойств липидного бислоя [8, 9]. Сходные нарушения могут лежать в основе адаптационно-компенсаторных механизмов старения [11] и механизмов действия фармакологических препаратов, применяемых в гериатрии.

Первые исследования возрастных аспектов структурно-функциональной организации мембран начаты в 1976 г. в рамках совместных работ Лаборатории биофизики и фотобиологии мембран Института фотобиологии АН БССР и Лаборатории физиологии сектора Геронтологии АН БССР (ныне Институт радиобиологии АН БССР). В настоящей статье подводятся итоги этих исследований. Используются следующие подходы: энзимологический (измерение аллостерических свойств мембраносвязанных ферментов), конформационный (оценка внутри-мембранной подвижности спиновых зондов, рН-индуцированной агрегации мембран, кинетики дезинтеграции мембран детергентами, числа поверхностных и скрытых сульфгидрильных групп), радиолигандный (оценка сродства рецепторов к нейромедиаторам и их антагонистам, чувствительности рецепторов к реагентам на функциональные группы белка), химико-аналитический (белковый, фосфолипидный, жирнокислотный состав).

На первом этапе работы казалось целесообразным использовать гомогенаты мозга и грубую фракцию синапсом, учитывая, что в ходе очистки и получения изолированных мембран возрастные различия могли бы нивелироваться в результате смыва отдельных компонентов и неизбежной деструкции. В подобных гетерогенных системах чувствительным тестом на структурное состояние мембраны могут служить аллостерические свойства маркерных ферментов синаптолеммы, к числу которых относится ацетилхолинэстераза (АХЭ). Правомочность такого подхода была обоснована ранее для эритроцитарных [21] и синаптических [6] мембран. В качестве аллостерических модификаторов АХЭ использовали новокаин и *d*-тубокурарин, неконкурентно ингибирующие фермент через регуляторные центры, отличные от активных. Судя по графикам Хилла дозовых кривых ингибирования АХЭ грубой фракции синапсом мозга крыс, у старых животных (24—26 мес) по сравнению со зрелыми (5—6 мес) возникают и усиливаются отрицательные кооперативные взаимодействия центров, связывающих *d*-тубокурарин (коэффициент Хилла снижается от 1,0 до 0,66) и новокаин (падение коэффициента от 0,77 до 0,5). Свойства каждого из указанных центров

также значительно модифицируются при старении: значения константы ингибирования (K_i) для тубокурарина изменяются при старении от $2,8 \cdot 10^{-5}$ до $2,8 \cdot 10^{-3}$ моль/л, а K_i для новокаина сдвигается от $1,28 \times 10^3$ до $7,6 \cdot 10^{-3}$ моль/л. В то же время, взаимодействие активных центров, а также константа Михаэлиса и удельная активность одинаковы в обеих группах животных [11, 12]. Для интерпретации этих данных существенны два момента: сольubilизация мембран зрелых крыс дезоксихолатом приближает значения K_i АХЭ новокаином к значениям, характерным для старых животных; скорость тепловой инактивации мембраносвязанной АХЭ с возрастом увеличивается. В совокупности с идентичностью кинетических, электрофоретических и иммунологических характеристик изолированной АХЭ мозга молодых и старых крыс [7], это позволяет сделать вывод о том, что изменения кооперативных свойств АХЭ отражают не постсинтетическую химическую модификацию самого фермента, а возрастную реорганизацию структуры синаптических мембран [11, 12].

Дальнейшие исследования [3, 4, 13] проводили на высокоочищенных синаптических мембранах мозга. Судя по одинаковой рН-индуцированной агрегации мембран (относительному приросту светорассеяния при рН 4 по сравнению с рН 7), не происходит существенных возрастных сдвигов адгезионных свойств поверхностей мембран, т. е. распределения на их поверхности зарядов и гидрофобных участков. У старых крыс скорость дезинтеграции мембран детергентом додецилсульфатом натрия, отражающая суммарную прочность сил межмолекулярного сцепления белков и липидов, примерно на 25 % выше, чем у зрелых, что указывает на общую дестабилизацию мембранной архитектуры.

В качестве интегральной характеристики мембранных белков использовали отношение поверхностных SH-групп к скрытым SH-группам, зависящее от усредненного конформационного состояния белков, их состава и топографии. Эта величина мало изменяется при старении, но абсолютное число поверхностных и скрытых тиоловых групп достоверно уменьшается. Так, их общее число, определяемое после солиubilизации мембран 1 %-ным додецилсульфатом натрия, уменьшается в 1,5 раза.

Сравнительную оценку микровязкости поверхностных и глубинных слоев синаптической мембраны проводили с помощью спиновых зондов 5-доксил- и 16-доксилстеарата соответственно. Мерой подвижности зондов, т. е. текучести их окружения в бислое, служило отношение амплитуды высокополевого пика сигнала ЭПР к амплитуде центрального. Отношение возрастает при снижении упорядоченности (росте текучести) гидрофобной зоны мембраны. Именно такой сдвиг характерен для мембран старых крыс, что свидетельствует о значительной модификации белок-липидных и липид-липидных взаимодействий в направлении разрыхления мембранной структуры. Аналогичные данные получены при определении параметров упорядоченности спин-меченной доксилпальмитиновой кислоты. По сравнению со зрелыми животными у старых отмечается разжижение липидного бислоя синаптолеммы при измерении в широком диапазоне температур ($10-39^\circ\text{C}$), причем вблизи температуры 37°C эти различия выражены слабее [13]. Сходная закономерность характерна и для мембран некоторых невозбудимых клеток, например, микросом печени [15].

Возникает вопрос, сопровождаются ли сдвиги подвижности жирнокислотных цепей липидного бислоя изменениями на уровне динамики мембранных белков? При использовании нитроксильной спиновой метки R_2 , ковалентно связывающейся с SH-группами белков, удалось показать, что у старых животных доля сильно иммобилизованных тиолов больше, чем у зрелых. Учитывая данные тиолометрии и электрофореза, согласно которым с возрастом не происходит кардинальных изменений распределения и амплитуды пиков отдельных мембранных полипептидов, данные ЭПР-спектроскопии наиболее адекватно объяс-

няются модификацией конформации синаптических мембран при старении.

Обусловлены ли структурные изменения состава мембран? Как уже отмечалось, состав мембран от возраста и пола животных, то при старении до старости, изменяется. В мозге, например, с возрастом увеличивается содержание фосфатидилэтаноламина, фосфатидилсерина, а лизофосфатидилхолина — уменьшается с данными об угнетении синтеза синаптических мембран в мозгах старых крыс [17]. Наблюдения, обнаруженные в препаратах старых крыс, указывают на изменение состава липидов мембран: соотношение ненасыщенных кислот: отношение ненасыщенные/насыщенные снижается, составляя 1,1 — 1,3 у молодых животных [5].

Для оценки вклада перестройки мембран в эффект «разжижения» мембраны кислой и интенсивность химической модификации водородом или озоном. В мембранах, богатых жирными кислотами, либо признаком возраста. Более того, активация природных мембран при активации мембраны приводит к понижению микровязкости мембраны. Роль модификации состава мембран в устойчивости синаптических мембран к фосфатидилхолину к сфинголипидным кислотам должна быть т. е. к прямо противоположному эффекту «разжижения» мембран. Об этом свидетельствует [19]. Здесь следует акцентировать внимание, что содержание фосфолипидов в мембранах, по сравнению с другими фосфолипидами, даже одной молекулы лизофосфатидилхолина, в состоянии ста молекулами, кооперативная природа реализации локальных возмущений в мембране, на свою очередь будет сказываться на включенных в него белках.

Учитывая крупномасштабные изменения, можно было ожидать, что она не связана с ферментами и не рассматривать упоминавшиеся свойства и термоустойчивость очищенных мембранных препаратов. Контролирующие мембранный потенциал, и мембранный потенциал, в условиях оптимума ($120 \text{ ммоль/л } \text{Na}^+$, $20 \text{ ммоль/л } \text{K}^+$) составляют 2,8 и 134 мкмолекулы от возраста животного. Ферменты не затрагивают действия, например, при введении в бислой. Оказалось, что чувствительность к активации начинается при старении животных. Это хорошо

няются модификацией конформации и (или) взаимокompановки белков синаптических мембран при старении [1].

Обусловлены ли структурные эффекты изменениями химического состава мембран? Как уже упоминалось, белковый набор синаптических мембран от возраста не зависит. Что касается фосфолипидного состава, то при старении достоверно не изменяется содержание сфингомиелина, фосфатидилэтаноламина и общих фосфолипидов, в то время как содержание фосфатидилхолина увеличивается примерно на 10 %, а лизофосфатидилхолина — в 2 раза [1, 5]. Эти данные хорошо согласуются с данными об угнетении синтеза фосфатидилхолина в микросомах мозга старых крыс [17] и о возрастных накоплениях лизолецитина, обнаруженных в препаратах целостного мозга [22]. Жирнокислотный состав липидов модифицируется в сторону преобладания насыщенных кислот: отношение ненасыщенных жирных кислот к насыщенным снижается, составляя 1,1 — у 6—7-месячных и 0,87 — у 24-месячных животных [5].

Для оценки вклада перекисного окисления липидов (ПОЛ) в эффект «разжижения» мембраны определены содержание ацилгидроперекисей и интенсивность хемилюминесценции, инициированной перекисью водорода или озоном. Все эти эксперименты не обнаружили каких-либо признаков возрастного усиления ПОЛ в синаптических мембранах. Более того, активация перекисных процессов и в модельных, и в природных мембранах приводит к повышению, а не к выявленному нами понижению микровязкости бислоя. Рассматривая потенциальную роль модификации состава липидов в понижении микровязкости и детергентоустойчивости синаптолеммы, отметим, что уменьшение отношения фосфатидилхолина к сфингомиелину, а также повышение насыщенности жирных кислот должны приводить к увеличению микровязкости, т. е. к прямо противоположному эффекту [20]. Остается допустить, что «разжижение» мембран обусловлено накоплением лизофосфатидилхолина, который действительно снижает микровязкость липидного бислоя [19]. Здесь следует акцентировать внимание на том важном обстоятельстве, что содержание лизолецитина в мембранах невелико по сравнению с другими фосфолипидами. Однако включения в мембрану даже одной молекулы лизоформы достаточно для изменения физического состояния ста молекул других фосфолипидов [23]. Иными словами, кооперативная природа организации мембран способствует генерализации локальных возмущений, идущих от участков встраивания лизофосфатидилхолина, на значительные зоны липидного бислоя, что в свою очередь будет сказываться на конформационном состоянии включенных в него белковых макромолекул.

Учитывая крупномасштабную природу реорганизации мембран, следовало ожидать, что она приведет к изменению конформации мембраносвязанных ферментов и рецепторов. С такой точки зрения можно рассматривать упоминавшуюся ранее модуляцию аллостерических свойств и термоустойчивости АХЭ в гомогенатах мозга. Используя очищенные мембранные препараты, мы сопоставили некоторые конформационночувствительные параметры Na^+ , K^+ -АТФазы — ключевого фермента, контролирующего ионный гомеостаз нейрона, а следовательно, и мембранный потенциал, активный транспорт нейромедиаторов и т. д. В условиях оптимума каталитической активности фермента (120 ммоль/л Na^+ , 20 ммоль/л K^+ , pH 7,5; 37 °C) значения K_m и $v_{\text{макс}}$ составляют 2,8 и 134 мкмоль $\text{P}_i \cdot \text{mg}^{-1}$ белка $\cdot \text{ч}^{-1}$ соответственно и не зависят от возраста животных [13]. Хотя каталитические характеристики фермента не затрагиваются при старении, изменения могли бы проявиться на уровне регуляции фермента через белок-липидные взаимодействия, например, при введении в мембрану пертурбантов липидного бислоя. Оказалось, что Na^+ , K^+ -АТФаза старых крыс обладает повышенной чувствительностью к ингибированию этанолом — торможение активности начинается при меньших концентрациях спирта, чем у зрелых животных. Это хорошо согласуется с возрастным «разжижением»

мембран, облегчающим направленное в ту же сторону действие спирта. Поскольку свойства и концентрация оуабайн-связывающих центров отражают конформационное состояние и регуляторные возможности олигомерной молекулы Na^+ , K^+ -АТФазы, на основании кривых Скетчарда были сопоставлены значения констант диссоциации комплекса оуабайновый рецептор — лиганд (^3H -меченный оуабайн) и концентрации рецепторов оуабайна у зрелых и старых крыс.

При старении максимальное число оуабайновых рецепторов (пропорциональное концентрации молекул Na^+ , K^+ -АТФазы) увеличивается почти на 100 % (от $0,63$ до $1,1 \cdot 10^{-7}$ моль/г белка) при неизменных значениях K_d ($4,2$ — $4,6 \cdot 10^{-7}$ моль/л). На первый взгляд, это находится в противоречии с неизменностью максимальной скорости ферментативной реакции, также отражающей концентрацию работающих молекул Na^+ , K^+ -АТФазы. Анализ возможных причин подобного несоответствия привел к выводу, что при старении в синаптических мембранах происходит экспонирование скрытых (резервных) оуабайновых рецепторов за счет возрастной реорганизации структур мембранной поверхности, не сопровождающейся, однако, изменением доступности активного центра для АТФ или эффективности фосфорилирования в молекуле Na^+ , K^+ -АТФазы. Идея о существовании скрытых оуабайновых рецепторов экспериментально обоснована Айрапетяном и соавт. [2] на ганглии виноградной улитки. Далее мы проанализировали свойства β -адренергических и m -холинергических рецепторов [5, 10], относящихся к основным участникам синаптической передачи в мозгу. Радиолигандным методом с использованием адренергического антагониста ^{125}I -гидроксibenзилпindoла (ГБП) у зрелых крыс были определены значения K_d и максимальной концентрации β -адренорецепторов в синаптических мембранах, составляющие $0,57 \cdot 10^{-10}$ моль/л и $0,165 \cdot 10^{-9}$ моль/г белка. У 24-месячных животных эти значения составляют $0,89 \cdot 10^{-10}$ моль/л и $0,26 \cdot 10^{-9}$ моль/г белка. Иными словами, на стадии позднего онтогенеза в синапсах мозга при неизменности K_d для связывания антагониста (сродства к нему) повышается плотность адренергических рецепторов, что может рассматриваться как одно из проявлений адаптационно-компенсаторного механизма старения [14]. Модифицируется ли при старении конформация рецепторов? Такие эффекты часто приводят к изменению их сродства к агонисту. Кажущееся сродство β -адренорецепторов к d , l -изопротеренолу и l -норадреналину, измеренное по вытеснению мембраносвязанного ГБП различными концентрациями этих соединений, падало у старых крыс в 3 раза к изопротеренолу и в 7 раз к норадреналину. Вывод о конформационной модификации рецепторов нашел подтверждение и в более прямых экспериментах, в которых измеряли чувствительность центра связывания антагониста к специфическому реагенту на SH-группы N-этилмалеимида (НЭМ) [1, 5]. Агента добавляли к мембранам без агониста (изопротеренола) либо одновременно с ним. После предобработки с помощью НЭМ и смесью НЭМ с изопротеренолом связывание антагониста ГБП у зрелых животных снижалось. У старых животных наблюдалась совершенно иная картина: блокада SH-групп не сказывалась на связывании ГБП, столь же неэффективен был и изопротеренол. Однако после совместного действия НЭМ и агониста связывание существенно уменьшалось. По-видимому, у старых животных, в отличие от зрелых, SH-группы рецептора, принимающие участие в стереоспецифическом связывании антагониста, не доступны для НЭМ и открываются только во время конформационного перехода в рецепторе, вызванного его комплексованием с агонистом. Это свидетельствует о возрастном изменении конформационной подвижности β -адренорецептора.

Как известно, физиологическое действие β -адренергических агонистов опосредуется аденилатциклазной системой и включает в себя повышение сродства рецептора к регуляторному G-белку, связывающему гуаниловые нуклеотиды. Поэтому казалось естественным предположить, что возрастная модификация адренорецептора приведет к транс-

формации ответа аденилатциклазы. Оказалось, что хотя при активности аденилатциклазы изопротеренолом взаимодействующий с аденилатциклазой активн

В том же аспекте напса — мускариновые сигнала в холинергичес зовали радиолиганд ^3H крыс предобработка НЭМ влияет на последующее животных все эти три современных представл ских рецепторах [16], нием расстояния между в результате чего НЭМ ста. Для того чтобы у ния возрастным сниже гичные опыты были п крыс при наличии 50 слоя. В таких условия рецепторов старых жи тельно способно регул

Подытоживая сод старение на уровне си ная реорганизация ме сдвига содержания ми странающаяся на клюо формации этих макро но затрагивает прежд молекулярных машин целом. Развиваемые з циональные нарушени изменением баланса

S. V. Konev, S. L. Aksentsev

STRUCTURAL REORGANIZATION OF MEMBRANES AND AGING

Results of the authors' studies confirm a notion on structural reorganization results in conformational changes of receptors underlying the aging process.

Institute of Photobiology, Academy of Sciences of the Byelorussian SSR, Minsk

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамчик Е. И. Структура и функции рецепторов мозга в условиях адаптации при старении: Автореферат диссертации. — М.: Наука, 1988. — 100 с.
2. Айрапетян С. Н., Дадашян А. А. Концентрация АТФазных молекул в мембранах. — Биохим. журн., 1988. — 1003—1006.
3. Аксентев С. Л., Окунев В. В. Роль рецепторов и функцию синапса в регуляции возбудимости. — Путино, 1988. — 650—652.
4. Аксентев С. Л., Милошвили В. В. Механизм действия агониста на синапс. — Путино, 1988. — 650—652.

формации ответа аденилатциклазы на ее специфические эффекторы. Оказалось, что хотя при старении и остается неизменной базальная активность аденилатциклазы синаптических мембран, активация фермента изопротеренолом и аденозином повышается, в то время как Na, F взаимодействующий с G-белком, значительно слабее стимулирует аденилатциклазную активность [1].

В том же аспекте изучали второй основной класс рецепторов синапса — мускариновые холинорецепторы, ответственные за передачу сигнала в холинергических нейронах. В качестве антагониста использовали радиолиганд ³H-хиноклидинилбензилат (ХНБ) [10]. У зрелых крыс предобработка НЭМ, агонистом карбохолином или их смесью не влияет на последующее связывание антагониста рецептором. У старых животных все эти три воздействия понижают связывание. Исходя из современных представлений о топографии SH-групп в *m*-холинергических рецепторах [16], подобные результаты можно объяснить уменьшением расстояния между алкилируемым тиолом и местом «посадки» ХНБ, в результате чего НЭМ стерически препятствует связыванию антагониста. Для того чтобы установить, не обусловлены ли подобные изменения возрастным снижением вязкости липидного бислоя, аналогичные опыты были проведены на синаптических мембранах зрелых крыс при наличии 50 ммоль/л бутанола, повышающего текучесть бислоя. В таких условиях рецепторы зрелых крыс приобретают свойства рецепторов старых животных, т. е. понижение вязкости действительно способно регулировать поведение *m*-холинорецепторов.

Подытоживая содержание нашего микрообзора, подчеркнем, что старение на уровне синаптических мембран протекает как кооперативная реорганизация мембранной архитектуры, возникающая вследствие сдвига содержания минорных фосфолипидов (лизолецитина) и распространяющаяся на ключевые ферменты и рецепторы. Модификация конформации этих макромолекул не носит денатурационного характера, но затрагивает прежде всего регуляторные характеристики белковых молекулярных машин и, как следствие, синаптической сети мозга в целом. Развиваемые здесь представления объясняют возрастные функциональные нарушения не синтезом каких-либо дефектных белков, а изменением баланса межмолекулярных взаимодействий в мембране.

S. V. Konev, S. L. Aksentsev, I. M. Okun, A. A. Milyutin

STRUCTURAL REORGANIZATION OF THE BRAIN SYNAPTIC MEMBRANES AND AGING

Results of the authors' studies and data from literature underlie the development of a notion on structural rearrangement of the brain synaptic membranes in aging. Reorganization results in conformational changes of the key membrane-bound enzymes and receptors underlying the age alterations of neuronal functions.

Institute of Photobiology, Academy of Sciences of the Byelorussian SSR, Minsk.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамчик Е. И. Структурно-функциональная организация синаптических мембран мозга в условиях адаптации организма к различной степени двигательной активности при старении: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Минск, 1986. — 20 с.
2. Айрапетян С. Н., Дадалян С. С., Марилян Г. Г. и др. О наличии «резервных» Na, K-АТФазных молекул в клеточных мембранах // Докл. АН СССР. — 1981. — 258, № 4. — С. 1003—1006.
3. Аксентев С. Л., Окунь И. М., Ракович А. А. и др. Влияние анестетиков на структуру и функцию синапсом мозга // Ультраструктура нейронов и фармакологические воздействия. — Пущино: Наука, 1981. — С. 3—6.
4. Аксентев С. Л., Милютин А. А., Беляева Е. И. и др. Возрастные изменения структурного состояния синаптических мембран мозга // Биофизика. — 1982. — 27, № 4. — С. 650—652.

5. Аксентьев С. Л., Окунь И. М., Милотин А. А. и др. Сравнительное исследование β -адренорецепторов синаптических мембран мозга // Биофизика.— 1982.— 27, № 1.— С. 156—157.
6. Вологовский И. Д., Шейко Л. М., Финин В. С. и др. Влияние структурного состояния синаптосомальной мембраны на каталитические свойства ацетилхолинэстеразы // Изв. АН БССР.— Сер. биол. наук.— 1976.— № 5.— С. 60—70.
7. Канунго М. Биохимия старения.— М.: Мир, 1982.— 250 с.
8. Конев С. В., Аксентьев С. Л., Черницкий Е. А. Кооперативные переходы белков в клетках.— Минск: Наука и техника, 1970.— 202 с.
9. Конев С. В. Структурная лабильность биологических мембран и регуляторные процессы.— Минск: Наука и техника, 1987.— 239 с.
10. Лыскова Т. И., Окунь И. М., Милотин А. А. и др. Исследование мускариновых холинорецепторов синаптических мембран мозга животных разного возраста // Биофизика.— 1983.— 28, № 4.— С. 709—710.
11. Милотин А. А., Аксентьев С. Л., Окунь И. М. и др. Сравнительные исследования структурного состояния синаптосомальных мембран мозга животных с различной продолжительностью жизни при старении // Демографические, физиологические и биохимические аспекты старения.— Минск: Наука и техника.— 1976.— С. 72—79.
12. Милотин А. А., Окунь И. М., Аксентьев С. Л. и др. О возрастных изменениях аллостерических свойств ацетилхолинэстеразы мозга // Биофизика.— 1976.— 21, № 6.— С. 1120—1122.
13. Милотин А. А., Беляева Е. И., Буланова К. Я. и др. Структурно-функциональные изменения синаптических мембран мозга при старении // Там же.— 1984.— 29, № 4.— С. 640—642.
14. Фролькис В. В. Старение. Нейрогуморальные механизмы.— Киев: Наук. думка, 1981.— 320 с.
15. Armbricht H., Birnbaum L., Zenser T., Davis B. Changes in hepatic microsomal membrane fluidity with age // Exp. gerontology.— 1982.— 17, N 1.— P. 41—48.
16. Aronstam R., Abood L., Hoss W. Influence of sulfhydryl reagents and heavy metals on the functional state of the muscarinic acetylcholine receptor in rat brain // Mol. Pharmacol.— 1978.— 14, N 4.— P. 575—586.
17. De Medio G. F., Tovaralli G., Piccinin G., Porcelati G. The effect of cytidine — diphosphate choline (CDP — choline) on brain lipid change during aging // J. Neurosci. Res.— 1984.— 11, N 1.— P. 49—58.
18. Finch C. E. The regulation of physiological changes during mammalia aging // Quart. Rev. Biol.— 1976.— 51, N 1.— P. 49—83.
19. Morris D., McNeil R., Castellino F., Thomas J. Interaction of lysophosphatidylcholine with phosphatidylcholine bilayers. A photophysical and NMR study // Biochim. et biophys. acta.— 1980.— 599, N 2.— P. 380—390.
20. Shinitzky M., Henkart P. Fluidity of cell membranes-current concepts and trends // Int. Rev. Cytol.— 1979.— 60, N 2.— P. 982—999.
21. Sineriz F., Farias R., Trucco T. The convenience of the use of allosteric «probes» for the study of lipid-protein interactions in biological membranes: thermodynamic considerations // J. Theor. biol.— 1975.— 52, N 1.— P. 113—120.
22. Sun A., Sun J. Neurochemical aspects of the membrane hypothesis of aging // Interdiscipl. Topics Gerontol.— 1979.— 15, N 1.— P. 34—53.
23. Van Echteld C., De Kruijff B., Mandersloot J., De Gier J. Effects of lysophosphatidylcholines on phosphatidylcholine and phosphatidylcholine/cholesterol liposome systems as revealed by ^{31}P -NMR, electron microscopy and permeability studies // Biochim. et biophys. acta.— 1981.— 649, N 2.— P. 211—220.

Ин-т фотобиологии АН БССР,
Минск

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

УДК 612.822.1/3:546.41:612.67

Д. Сатрустеги, Е. Богонез, Ж. Виторики,
П. Бланко, А. Мартинез-Серрано

Изменения кальцийтранспортных систем в синаптосомах мозга крыс и их возможное участие в патофизиологии старения

Ионы кальция играют важную роль в нейромедиации. В области плазматической мембраны кальций запускает секрецию медиатора в нервных синапсах. Вероятно, ионы кальция вступают во взаимодействие с

© Д. САТРУСТЕГИ, Е. БОГОНЕЗ, Ж. ВИТОРИКИ, П. БЛАНКО,
А. МАРТИНЕЗ-СЕРРАНО, 1990.

кальцийсвязывающими белками цитозоля. Однако выделение р-синапсов [35]. Известно также, что ключевые ферменты активации протенинфосфатазы, фосфорилированные регуляторы могут участвовать в энергетических соединениях, а также в мембране) и элемент мы принимают участие в к-мость и пластичность). По-ция, играют решающую ро-стемы. Раскрытие под влия-кальциевых каналов (ПЗК-низмом повышения уровн-Важными механизмами, у-золя после активации нейр-ми органеллами (митохонд-и выведение через плазмат-и Na_2Ca -обменника [5, 7]

Кальциевые каналы. П-висимых каналов, так назы-зация каналов на плазма-идентификация в нервных

Первые доказательства бы-быть снижен при старен-новили снижение обуслов-наптосомах 24-месячных и-3-месячных животных. Им-ные с функцией ПЗКК), $^{45}\text{Ca}^{2+}$ с возрастом. Напр-только раскрытие ПЗКК,-собствует входу кальция-ющих работах, проведен-старении было проанали-вклада Na/Ca -обменника-поддерживаемой на пост-ризации.

При определении ме-хвата кальция при раз-возраста обнаружено, чт-ся с возрастом при раз-установили каких либо-центрациях K^+ . Эти дан-ранного потенциала, вер-ция при старении. Боле-напряжения у 3- и 24-м-мального захвата каль-месячных крыс, в то вр-зации (V) не изменялось

Исследования синап-что в синаптосомах про-тивация ПЗКК-опосредс-му, который описан в э-в связи с тем, что шк-значительно отличается-ваниях, определение си-тивации, остается спорн-ческим блокаторам кан-

В исследованиях кр-сячных крыс, проведен-